

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

NAYANA CAROLINA FERREIRA STOFELLA DE MORAES

CARACTERIZAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO DA SITAGLIPTINA E
DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE COMPRIMIDO ORODISPERSÍVEL

CURITIBA

2018

NAYANA CAROLINA FERREIRA STOFELLA DE MORAES

CARACTERIZAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO DA SITAGLIPTINA E
DESENVOLVIMENTO TECNOLÓGICO DE COMPRIMIDO ORODISPERSÍVEL

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas, Setor de Ciências da Saúde, da Universidade Federal do Paraná, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Ciências Farmacêuticas.

Orientador: Prof. Dr. Fábio Seigi Murakami
Co-orientador: Prof. Dr. Itamar Francisco Andreatza

CURITIBA

2018

Moraes, Nayana Carolina Ferreira Stofella de

Caracterização no estado sólido da sitagliptina e desenvolvimento tecnológico de comprimido orodispersível [recurso eletrônico] / Nayana Carolina Ferreira Stofella de Moraes – Curitiba, 2018.

Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas. Setor de Ciências da Saúde. Universidade Federal do Paraná, 2018.

Orientador: Professor Dr. Fábio Seigi Murakami

Coorientador: Professor Dr. Itamar Francisco Andreazza

1. Sitagliptina. 2. Comprimidos. 3. Controle de qualidade. I. Murakami, Fábio Seigi. II. Andreazza, Itamar Francisco. III. Universidade Federal do Paraná. IV. Título.

CDD 615.1



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR CIÊNCIAS DA SAÚDE
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO CIÊNCIAS
FARMACÉUTICAS

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em CIÊNCIAS FARMACÉUTICAS da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **NAYANA CAROLINA FERREIRA STOFELLA DE MORAES** intitulada: **Caracterização no estado sólido de sitagliptina e desenvolvimento tecnológico de comprimidos orodispersíveis**, após terem inquirido a aluna e realizado a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua APROVAÇÃO no rito de defesa.

A outorga do título de mestre está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

Curitiba, 20 de Dezembro de 2018.


FÁBIO SEIGI MURAKAMI
Presidente da Banca Examinadora (UFPR)


JAQUELINE CARNEIRO
Avaliador Externo


ROBERTO PONTAROLO
Avaliador Interno (UFPR)

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus por me conceder a vida, pela sua infinita misericórdia, que é renovada a cada manhã. Te agradeço o Pai por ter abençoado meus sonhos, e porque Teus planos são muito maiores do que eu um dia possa imaginar. Te agradeço por me guiar dia após dia, sendo a minha rocha em quem me refúgio nos momentos de tristeza e alegria. Toda honra e glória pertencem somente a Ti.

Agradeço ao meu orientador professor Dr. Fábio Seigi Murakami, pelo prazer e privilégio de ser sua orientada, pelas ensinamentos, orientações e contribuições a minha formação, além da amizade construída agradeço por ter sido o melhor orientador que poderia ter.

Agradeço ao Professor Dr. Itamar Andreazza, por compartilhar seus ensinamentos pacientemente, por sempre estar disposto a ajudar, e pela sua bondade e generosidade.

A Fundação de Coordenação e Aperfeiçoamento de Pessoa de Nível Superior (CAPES), pela bolsa concedida, que permitiu a realização do mestrado.

Ao grupo de pesquisa QUALITEC (Aline, Andressa, Elisa, Maria da Graça, Mariana e Raul) por terem aberto as portas, por me acolherem e confiarem em mim. Agradeço ainda pela ajuda, companheirismo e parceria no dia a dia, principalmente nos experimentos.

A minha companheira de laboratório, Andressa Veiga, agradeço pela amizade, pelos conselhos, por aguentar meus desabafos e por ter sido minha psicóloga em vários momentos.

A minha amiga Beatriz Böger, pelo incentivo para cursar o mestrado, pela amizade, pelas longas conversas, pelos cafés, risadas e companheirismo todos os dias desta trajetória.

A Laiane Oliveira, Renata Spark e Mariana Facchi, agradeço pela amizade e parceria e principalmente por sempre estarem dispostas a ajudar no que fosse necessário.

A minha família, em especial a memória do meu pai Mauricio Stofella, que nunca mediu esforços para me ajudar e sempre foi meu maior incentivador. A minha mãe Nilda Ferreira Stofella, meu maior exemplo de vida, força e de determinação, obrigada pelo amor, carinho, compreensão e por estar ao meu

lado todos os dias. Ao meu irmão e melhor amigo Elvi José Stofella Neto, sou grata por sempre me apoiou e ajudar em todos os momentos da minha vida. E a minha madrinha Esmeralda Neves, que sempre esteve presente dando forças e ajudando.

Ao meu amado esposo, Fernando Piovesan, agradeço por acreditar no meu potencial, por me incentivar, por enfrentar essa jornada comigo e principalmente por sonhar os sonhos de Deus ao meu lado. Agradeço ainda por ter sido paciente e compreensivo com ausência e distância que enfrentou, mas ainda assim, por nunca ter deixado de me apoiar.

A todos aqueles que direta ou indiretamente me auxiliaram na realização deste trabalho.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes proezas da história foram conquistas daquilo que parecia impossível.”

Charles Chaplin

RESUMO

A sitagliptina é um fármaco inibidor da dipeptidil peptidase-4 (DPP-4) que representa uma classe de agentes hipoglicêmicos (gliptinas) utilizadas no tratamento do diabetes mellitus (DM) tipo 2. Esta é caracterizada pela perda progressiva da função das células β -pancreáticas e resistência à insulina. E devido o diabetes mellitus tipo 2 ser a mais prevalente tipo de DM, além de ser uma importante doença com preocupação de saúde pública em todo o mundo, o desenvolvimento de comprimidos orodispersíveis (ODT) é uma opção atraente para suprir as necessidades de paciente com dificuldade de deglutição. Desta forma, este trabalho teve início com a caracterização das propriedades físico-químicas da matéria-prima no estado sólido, através de diversas metodologias analíticas como: análise térmica e técnicas de espectroscopia e microscopia. Observou-se por Calorimetria Exploratória Diferencial (DSC), que após a desidratação da STG, ocorreu um evento característico de transição cristalina, alterando as características físico-químicas da amostra. Já na STGB observou-se que na forma base apresenta um comportamento diferente da forma fosfatada e monoidratada. Por análise cinética não-isotérmica, foi possível determinar a termoestabilidade das amostras, onde a STG e STGA apresentaram discreta diferença, porém mais termoestáveis no que se refere a molécula desfosfatada. Para corroborar a caracterização das amostras foram realizadas técnicas de espectroscopia, difração de raios-x e microscopia, estabelecendo desta forma a estrutura cristalina mais adequada para o desenvolvimento de formas farmacêuticas com qualidade. Posteriormente para o desenvolvimento de formulações e a produção de ODT, é relevante a combinação de excipientes que viabilizem a formulação com características de rápida desintegração, sem interferir na atividade farmacológica da sitagliptina, sendo assim, foi realizado os estudos de compatibilidade fármaco-excipiente, por meio de técnicas de espectroscopia e microscopia. Em seguida, foram desenvolvidas duas formulações de comprimidos orodispersíveis com diferentes superdesintegrantes (croscarmelose e crospovidona), após o desenvolvimento dos ODT, a qualidade dos comprimidos foi avaliada segundo os ensaios analíticos dos compêndios oficiais, e ensaios de dissolução para avaliação do ODT, cuja metodologia foi desenvolvida e validada, onde foi avaliado os

seguintes parâmetros: especificidade, linearidade, limite de quantificação, limite de detecção, precisão, exatidão e robustez segundo preconizado pela farmacopeia americana, *Internacional Conference Harmonization* (ICH) e RDC 166/ 2017.

Palavras - Chave: Sitagliptina, comprimidos orodispersíveis, caracterização no estado sólido, análise térmica, compatibilidade, controle de qualidade, validação de metodologia.

ABSTRACT

Sitagliptin is a dipeptidyl peptidase-4 (DPP-4) inhibitor drug that represents a class of hypoglycemic agents (gliptins) used in the treatment of type 2 diabetes mellitus (DM). This is characterized by the progressive loss of β -pancreatic and insulin resistance. And because type 2 diabetes mellitus is the most prevalent type of DM, in addition to being an important public health concern worldwide, the development of orodispersible tablets (ODT) is an attractive option to meet the needs of patients with difficulty in swallowing. Thus, this work began with the characterization of the physical-chemical properties of the raw material in the solid state, through several analytical methodologies such as: thermal analysis and spectroscopy and microscopy techniques. It was observed by Differential Exploration Calorimetry (DSC), that after the dehydration of the STG, a characteristic event of crystalline transition occurred, altering the physical-chemical characteristics of the sample. In the STGB, it was observed that in the base form it presents a behavior different from the phosphate and monohydrate form. By non-isothermal kinetic analysis, it was possible to determine the thermostability of the samples, where STG and STGA presented a discrete difference, but more thermostable with respect to the dephosphated molecule. In order to corroborate the characterization of the samples, spectroscopy, x-ray diffraction and microscopy techniques were performed, thus establishing the most suitable crystalline structure for the development of pharmaceutical forms with quality. Subsequently, for the development of formulations and the production of ODT, the combination of excipients that enable the formulation with characteristics of rapid disintegration, without interfering in the pharmacological activity of sitagliptin, is relevant, and therefore, studies of drug-excipient compatibility have been carried out. techniques of spectroscopy and microscopy. Thereafter, two formulations of orodispersible tablets with different super-disintegrating agents (croscarmellose and crospovidone) were developed after ODT development, tablet quality was assessed according to the official compendial analytical tests and dissolution tests for ODT, whose methodology was developed and validated, where the following parameters were evaluated: specificity, linearity, quantification limit, detection limit, accuracy, accuracy and

robustness as recommended by the International Pharmacopoeia, International Conference Harmonization (ICH) and RDC166/2017.

Key-words: Sitagliptin, tablets orodispersibles, solid-state characterization, thermal analysis, compatibility, quality control, methodology validation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

REVISÃO DE LITERATURA

Figura 1. Mecanismo de ação da sitagliptina	26
---	----

CAPÍTULO I

Figura 1. Estrutura química do fosfato de sitagliptina monoidratado	35
Figura 2. Curvas DSC e TG/DrTG do fosfato de sitagliptina monoidratado obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min ⁻¹ e razão de 10 °C min ⁻¹	42
Figura 3. Curvas DSC e TG/DrTG do fosfato de sitagliptina anidra obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min ⁻¹ e razão de 10 °C min ⁻¹	42
Figura 4. Curvas DSC e TG/DrTG da forma base de sitagliptina obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min ⁻¹ e razão de 10 °C min ⁻¹	43
Figura 5. Curvas TG-MS do fosfato de sitagliptina monoidratado obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min ⁻¹ e razão de 10 °C min ⁻¹ , com 350 scans.	44
Figura 6. Proposta de decomposição térmica do fosfato de sitagliptina monoidratado.	45
Figura 7. Curvas DSC: (a) STG, (b) STGA e (c) STGB obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min ⁻¹ e razão de 2 °C min ⁻¹	46
Figura 8. Curvas TG de STG obtida em diferentes razões de aquecimento sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min ⁻¹ . A inserção mostra a tendência linear e correlação das curvas através do método de Ozawa	47
Figura 9. Curvas TG de STGA obtida em diferentes razões de aquecimento sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min ⁻¹ . A inserção mostra a tendência linear e correlação das curvas através do método de Ozawa	48
Figura 10. Curvas TG de STGB obtida em diferentes razões de aquecimento sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min ⁻¹ . A inserção mostra a tendência linear e correlação das curvas através do método de Ozawa	49
Figura 11. Comparativo dos espectros de FTIR das amostras de fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e forma base sitagliptina (STGB).	51

Figura 12. Comparativo dos espectros de RAMAN das amostras de fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e forma base sitagliptina (STGB).	53
Figura 13. Difração de raios-X em pó (DRX) de fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e forma base sitagliptina (STGB).	54
Figura 14. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV): STG (A1 200× e A2 600×), STGA (B1 200× e B2 600×) e STGB (C1 2000× e C2 5000×).	56

CAPÍTULO II

Figura 1. Curvas DSC de sitagliptina e mistura binárias fármaco-excipiente obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min ⁻¹ e razão de 10 °C min ⁻¹	77
Figura 2. Difração de raios-X em pó (DRX) da STG pura e STG com excipientes.	79
Figura 3. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) da STG pura e STG com excipientes.	81
Figura 4. Fotomicrografias capturadas em solução saliva simulada pH 6,8. A= tempo de 5 segundos (A1 formulação 1 e A2 formulação 2), B = tempo de 20 segundos (B1 formulação 1 e B2 formulação 2), C = tempo de 40 segundos (C1 formulação 1 e C2 formulação 2).	88
Figura 5. Determinação da especificidade do método de dissolução.....	89
Figura 6. Curva de linearidade do método de dissolução	90
Figura 7. Perfil de dissolução dos comprimidos orodispersíveis	94

LISTA DE TABELAS

CAPÍTULO I

Tabela 1. Termos descritivos de solubilidade e seus significados	39
Tabela 2. Parâmetros cinéticos obtidos para STG, STGA e STGB através da análise cinética não-isotérmica	48

CAPÍTULO II

Tabela 1. Composição quantitativa dos componentes utilizados para preparação das formulações teste para técnica de compressão	66
Tabela 2. Valores das curvas DSC mostrando os resultados de T_{peak} , T_{onset} , T_{endset} e entalpia (ΔH) da sitagliptina e misturas binárias fármaco-excipiente, correspondentes à formulação de comprimidos orodispersíveis.....	77
Tabela 3. Resultados de doseamento para as formulações 1 e 2.....	82
Tabela 4. Resultados da uniformidade de doses unitárias por variação de peso	83
Tabela 5. Peso médio dos comprimidos orodispersíveis (Formulação 1)	84
Tabela 6. Peso médio dos comprimidos orodispersíveis (Formulação 2)	84
Tabela 7. Resultados de dureza para as formulações 1 e 2.	85
Tabela 8. Resultados de friabilidade para as formulações 1 e 2.	86
Tabela 9. Resultados de desintegração para as formulações 1 e 2.....	86
Tabela 10. Precisão do método de dissolução.....	91
Tabela 11. Exatidão do método de dissolução.....	92
Tabela 12. Robustez do método de dissolução.....	93
Tabela 13. Eficiência de dissolução da sitagliptina em comprimidos orodispersíveis.	95

LISTA DE ABREVIATURA, SIGLAS E SÍMBOLO

ANVISA	– Agência Nacional de Vigilância Sanitária
APG	– Amido pré-gelatinizado
IFA	– Ingrediente farmacêutico ativo
ATR	– Reflexão total atenuada
ATR-FTIR	– Infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada
BCS	– Classificação biofarmacêutica
CCS	– Croscarmellose
CMC	– Celulose microcristalina
CPVP	– Crospovidona
DM	– Diabetes <i>mellitus</i>
DM1	– Diabetes <i>mellitus</i> tipo 1
DM2	– Diabetes <i>mellitus</i> tipo 2
DP	– Desvio padrão
DPP-4	– Dipeptidil peptidase-4
DPR	– Desvio padrão relativo
DrTG	– Derivada da TG
DRX	– Difração de raios-X
DRXP	– Difração de raios-X de pó
DSC	– Calorimetria exploratória diferencial
DXS	– Dióxido de silício coloidal
Ea	– Energia de ativação
ED	– Eficiência de dissolução
EXCIP	– Excipientes
FDA	– Food and Drug Administration
FLV	– Flavorizante cacau
FTIR	– Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier
FWO	– Flynn-wall-ozawa
GIP	– Polipeptídeo insulínico dependente de glicose
GLP-1	– Peptídeo tipo glucagon-1
HbA1C	– Hemoglobina glicada
HLA	– Antígenos de leucócitos humanos

ICH	– Conselho internacional para harmonização de requisitos técnicos para produtos farmacêuticos para uso humanos
IR	– Infravermelho
IUPAC	– União internacional de química pura e aplicada
LD	– Limite de detecção
LQ	– Limite de quantificação
MEV	– Microscopia eletrônica de varredura
N	– Newton
ODT	– Comprimido orodispersível
RDC	– Resolução da diretoria colegiada
STG	– Fosfato de sitagliptina monoidratada
STGA	– Fosfato de sitagliptina anidra
STGB	– Forma base de sitagliptina
TG	– Termogravimetria
TG-MS	– Termogravimetria e espectrometria de massas
USP	– United States Pharmacopeia
UV	– Ultravioleta
VA	– Valor de aceitação
\bar{X}	– Média

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO GERAL.....	20
2. OBJETIVOS.....	22
2.1 OBJETIVO GERAL	22
2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO	22
3. REVISÃO DE LITERATURA	23
3.1 DIABETES <i>MELLITUS</i>	23
3.2 TRATAMENTO PARA DIABETES <i>MELLITUS</i> TIPO 2.....	23
3.3 SITAGLIPTINA	24
3.3.1 MECANISMO DE AÇÃO	25
3.4 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO	27
3.5 CARACTERIZAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO DA MATÉRIA-PRIMA.....	27
3.5.1 ANÁLISE TÉRMICA.....	28
3.5.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X, ESPECTROSCÓPIA E MICROSCOPIA.....	28
3.6 FORMAS FARMACÊUTICAS.....	30
3.6.1 COMPRIMIDOS ORODISPERSÍVEIS	31
3.6.2 TÉCNICA PARA PREPARAÇÃO DE COMPRIMIDOS ORODISPERSÍVEIS	32
3.7 CONTROLE DE QUALIDADE	33
3.8 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA.....	33

CAPÍTULO I

1. INTRODUÇÃO	35
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	37
2.1 MATERIAL.....	37
2.2 DESIDRATAÇÃO DO FOSFATO DE SITAGLIPTINA MONOIDRATADA...	37
2.3 DESFOSFATAÇÃO DO FOSFATO DE SITAGLIPTINA	37
2.4 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC).....	37
2.5 TERMOGRAVIMETRIA (TG).....	38
2.6 TERMOGRAVIMETRIA – ESPECTROMETRIA DE MASSAS (TG-MS)	38
2.7 PONTO DE FUSÃO	39
2.8 SOLUBILIDADE.....	39

2.9 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	40
2.10 ESPECTROSCOPIA DE RAMAN	40
2.11 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (DRXP).....	40
2.12 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	40
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	41
3.1 CARACTERIZAÇÃO TERMO-ANALÍTICA	41
3.2 ANÁLISE DE PUREZA	45
3.3 ANÁLISE CINÉTICA	46
3.4 SOLUBILIDADE.....	50
3.5 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)	50
3.6 ESPECTROSCOPIA DE RAMAN	52
3.7 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ(DRXP)	53
3.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV).....	55
4. CONCLUSÃO	57
5. REFERÊNCIAS.....	59

CAPÍTULO II

1. INTRODUÇÃO	63
2. METODOLOGIA	65
2.1 REAGENTES	65
2.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS	65
2.3 DESENVOLVIMENTO DO COMPRIMIDO ORODISPERSÍVEL	65
2.4 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE	66
2.4.1 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)	66
2.4.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (DRXP)	67
2.4.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR).....	67
2.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS COMPRIMIDOS	67
2.5.1 DOSEAMENTO	67
2.5.2 UNIFORMIDADE DE DOSE UNITÁRIA	68
2.5.3 DETERMINAÇÃO DE PESO.....	69
2.5.4 DETERMINAÇÃO DE RESISTÊNCIA MECÂNICA.....	69

2.5.5 DESINTEGRAÇÃO	69
2.5.6 DISSOLUÇÃO	70
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO	75
3.1 DESENVOLVIMENTO DOS COMPRIMIDOS ORODISPERSÍVEIS	75
3.2 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE	76
3.2.1 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)	76
3.2.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (DRXP)	78
3.2.3 A ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER POR REFLEXÃO TOTAL ATENUADA (ATR-FTIR)	80
3.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS COMPRIMIDOS	81
3.3.1 DOSEAMENTO	81
3.3.2 UNIFORMIDADE DE DOSE UNITÁRIA	82
3.3.3 DETERMINAÇÃO DO PESO MÉDIO	83
3.3.4 DETERMINAÇÃO DE RESISTÊNCIA MECÂNICA	84
3.3.5 DESINTEGRAÇÃO	86
3.4 ESTUDO DE DISSOLUÇÃO	88
3.4.1 VALIDAÇÃO	89
3.4.2 PERFIL DE DISSOLUÇÃO	93
4. CONCLUSÃO	96
5. REFERÊNCIAS	98
 CONCLUSÃO GERAL	 101
REFERÊNCIAS	102

1. INTRODUÇÃO GERAL

Os fármacos são administrados em diferentes formas farmacêuticas, cuja escolha adequada é necessária para viabilizar dosagens exatas de princípios ativos de modo seguro e conveniente. As formas farmacêuticas sólidas são as mais utilizadas devido às suas vantagens em relação as outras formas farmacêuticas, como a facilidade da administração oral, alta estabilidade e reprodutibilidade (AULTON, 2016; TOLLER; SCHIMDT, 2005).

Entre as formas farmacêuticas sólidas, os comprimidos orodispersíveis estão se tornando formas farmacêuticas orais populares, em particular para uso pediátrico e geriátrico. O desenvolvimento de dessas novas formas farmacêuticas que se desintegram rapidamente na cavidade oral, facilita a administração oral ou tornam o seu uso mais conveniente (PETROVICK; KLEINEBUDDE; BREITKREUTZ, 2018; SLAVKOVA; BREITKREUTZ, 2015).

Para o desenvolvimento racional de formas farmacêuticas é necessário uma completa caracterização e compreensão das interações físico-químicas de um ingrediente farmacêutico ativo (IFA) com os excipientes, uma vez que é mais desejável a eficácia consistente, segurança e estabilidade de um medicamento desenvolvido (CHADHA; BHANDARI, 2014).

Frente ao exposto e levando em consideração que o diabetes *mellitus* (DM) é um importante e crescente problema de saúde para todos os países, independentemente do seu grau de desenvolvimento, sendo o diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) uma doença metabólica mundial distúrbio associado a várias complicações, os comprimidos orodispersíveis (ODT) são uma opção para suprir as necessidades destes pacientes (LIN; SUKSOMBOON, 2018; SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017).

Dentre os tratamentos para DM2, os inibidores da dipeptidil peptidase-4 (DPP-4), também conhecidos como gliptinas, melhoram o controle da glicose sem induzir hipoglicemia. Esta classe atua como intensificadores da incretina, estimulando a secreção de insulina pós-refeição e inibição da secreção de glucagon, ambos de maneira dependente de glicose, sendo a principal gliptina utilizada no tratamento de DM2, a sitagliptina (SCHEEN, 2018).

Portanto, no propósito de facilitar a ingestão e otimizar a adesão ao tratamento de pacientes idosos, pediátricos ou hospitalizados, o presente trabalho teve como

escopo o desenvolvimento racional de comprimidos orodispersíveis contendo sitagliptina. Para tanto, realizou-se a caracterização das propriedades do estado sólido das diferentes formas cristalinas da sitagliptina, assim como o estudo de compatibilidade farmaco-excipiente. Além do desenvolvimento e produção dos comprimidos orodispersíveis pela técnica de compressão direta, foi feito a validação de metodologia analítica para estudos de dissolução do fármaco, bem como avaliação e padronização de todo processo de desenvolvimento buscando a melhor formulação.

2. OBJETIVOS

2.1 OBJETIVO GERAL

Realizar o estudo de caracterização no estado sólido da sitagliptina, desenvolver uma forma farmacêutica sólida de rápida desintegração e desenvolver e validar metodologia para viabilizar ensaios de dissolução da forma farmacêutica desenvolvida.

2.2 OBJETIVO ESPECÍFICO

- Caracterizar todas as formas da sitagliptina através de técnicas instrumentais analíticas como: DSC, TG, FTIR, RAMAN, DRX e MEV;
- Avaliar as características no estado sólido do fosfato de sitagliptina monoidratado (STG), fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e forma base de sitagliptina (STGB);
- Realizar o estudo de pré-formulação para desenvolver comprimidos orodispersíveis (ODT);
- Desenvolver comprimidos orodispersíveis cujas características de desintegração sejam satisfatórias;
- Determinar as características físico-químicas dos comprimidos orodispersíveis produzidos;
- Desenvolver uma metodologia analítica para ensaios de dissolução;
- Validar a metodologia desenvolvida.

3. REVISÃO DE LITERATURA

3.1 DIABETES *MELLITUS*

O Diabetes *mellitus* (DM) é definido como a desequilíbrio do metabolismo da glicose, caracterizada por hiperglicemia resultante de defeitos na secreção de insulina, na ação de insulina ou ambos. A hiperglicemia crônica da diabetes está associada a danos prolongados, disfunção e falha de diferentes órgãos, especialmente os olhos, rins, nervos, coração e vasos sanguíneos (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2011; CANIVELL; GOMIS, 2014).

Em 2014, o número da população adulta com DM aumentou para 422 milhões (prevalência: 8,5%), com um aumento particularmente acentuado nos países de baixa e média renda (WHO, 2016).

A maioria dos casos de diabetes se enquadra em duas categorias etiopatogenéticas amplas. Em uma categoria, diabetes tipo 1, a causa é uma deficiência absoluta de secreção de insulina. Já na diabetes tipo 2, sendo 90 a 95% das pessoas com diabetes, a causa é uma combinação de resistência à ação da insulina e resposta inadequada à secreção de insulina (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2011; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2015).

O Diabetes *mellitus* tipo 1 (DM1) é uma doença caracterizada pela destruição discriminatória de células β -pancreáticas. Embora nenhuma etiologia única seja conhecida, estudos de associação epidemiológica e em todo o genoma relacionaram DM1 com fatores genéticos, ou seja, polimorfismos em haplótipos de antígenos de leucócitos humanos (HLA) e fatores ambientais como infecções virais (JEAN-BAPTISTE et al., 2017).

O Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) é um grupo heterogêneo de distúrbios caracterizados por grau variável de resistência à insulina com perda progressiva da função das células β -pancreáticas, a secreção de insulina fica prejudicada e há aumento da produção de glicose (CAI et al., 2016; MUSHTAQUE et al., 2016).

3.2 TRATAMENTO PARA DIABETES *MELLITUS* TIPO 2

O tratamento inicial para DM2 baseia-se em mudanças no estilo de vida em associação com farmacoterapia individualizada, atentando para a existência de

complicações cardiovasculares, bem como aos efeitos adversos relacionados com a medicação. A dificuldade reside no fato de que grande parte dos hipoglicemiantes apresentam problemas em sua eficiência quando associados a medicações para o tratamento de complicações do DM, como a hipertensão e dislipidemias (MENÉNDEZ TORRE et al., 2011).

O tratamento para DM tipo 2 tem como objetivo a normoglicemia, onde os agentes antidiabéticos orais são medicamentos que reduzem a glicemia, com o objetivo de mantê-la em níveis normais (em jejum < 100 mg/dL e pós-prandial < 140 mg/dL), além de valores de hemoglobina glicada (HbA1C) inferiores a 7% (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017).

Atualmente, existe diversos medicamentos para o tratamento de diabetes, como metformina, sulfonilureias, glinidas, tiazolidinedionas, inibidores de disacaridase, inibidores de dipeptidil peptidase-4 e agonistas de receptores de peptídeo 1 semelhantes para o glucagon (peptídeo tipo glucagon-1 [GLP-1]) que, juntamente com a insulina, pode ser utilizado em monoterapia ou em combinação (MENÉNDEZ TORRE et al., 2011).

Os inibidores da enzima dipeptidil peptidase-4, reduzem a degradação do GLP-1, aumentando, assim, a sua vida média, com promoção das principais ações, tais como liberação de insulina, redução da velocidade de esvaziamento gástrico e inibição da secreção de glucagon (SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES, 2017). Desta forma, as gliptinas, como por exemplo a sitagliptina, representam uma classe de agentes hipoglicêmicos que podem melhorar o controle glicêmico com baixo risco de hipoglicemia (CAI et al., 2016).

3.3 SITAGLIPTINA

A sitagliptina é um inibidor competitivo altamente seletivo do sistema enzimático dipeptidil peptidase-4, indicado como adjuvante à dieta e ao exercício para melhorar o controle glicêmico em adultos com DM2 (BERGER et al., 2018; EL-BAGARY; ELKADY; AYOUB, 2011; GREEN et al., 2015).

A sitagliptina está disponível no mercado na forma de sal fosfato. É bem conhecida como fosfato de sitagliptina monoidratada, com nome IUPAC (7 - [(3R) -3-amino-1-oxo-4- (2,4,5- trifluorofenil) butil] -5,6,7,8-tetra-hidro-3- (trifluorometil) -1,2, 4-triazolo [4,3-a] pirazina). O fosfato de sitagliptina monoidratado é um pó branco

cristalino, não higroscópico, solúvel em água e *N,N*-dimetilformamida, ligeiramente solúvel em metanol e muito pouco solúvel em etanol, acetona e acetonitrila. A sua fórmula molecular é $C_{16}H_{15}F_6N_5O \cdot H_3PO_4 \cdot H_2O$ e o peso molecular é de 523,32 g mol⁻¹ (SIRIGIRI, 2018).

De acordo com o sistema de classificação biofarmacêutica (BCS), a sitagliptina está entre a Classe III (alta solubilidade/baixa permeabilidade) e Classe I (alta solubilidade/alta permeabilidade). A sitagliptina é rapidamente absorvida após administração oral com biodisponibilidade absoluta de aproximadamente 87%. A meia-vida de eliminação da sitagliptina é de 12,4 horas (SHAKYA, 2015).

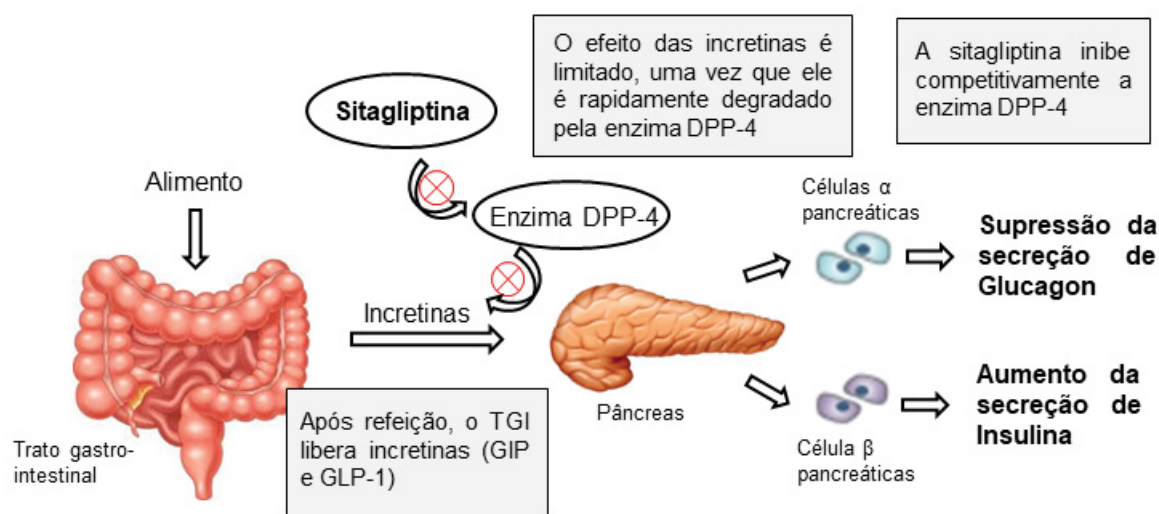
O medicamento referência é comercializado pela Merck & Co sob o nome comercial de Januvia® como fosfato de sitagliptina monoidratado, aprovada em 2006 pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (DOGGRELL; DIMMITT, 2016; TIEGER et al., 2017).

3.3.1 MECANISMO DE AÇÃO

DPP-4 é membro de uma família de endopeptidases, responsável pela rápida clivagem das incretinas, nomeadamente peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1) e peptídeo insulínico dependente de glicose (GIP), sendo estes os únicos substratos da DPP-4. A DPP-4 cliva preferencialmente peptídeos com o aminoácido alanina ou prolina na posição 2 do terminal N da cadeia peptídica. A amida ativa de GLP-1 (7-36) é clivada por DPP-4 para produzir um dipeptídeo (His-Ala) e uma amida GLP-1 (9-36) (THORNBERRY; GALLWITZ, 2009).

A ação farmacológica é apresentada na Figura 1, onde após uma refeição, o trato gastrointestinal libera o GLP-1 e GIP em resposta à ingestão de alimentos, produzindo aumento na secreção de insulina pós-prandial, levando a supressão da secreção de glucagon. Com a administração dos inibidores de DPP-4, as concentrações ativas de GLP-1 e GIP endógeno são aumentadas de duas a três vezes (BÖSENBERG; VAN ZYL, 2008; THORNBERRY; GALLWITZ, 2009).

Figura 1. Mecanismo de ação da sitagliptina



FONTE: O AUTOR, 2018.

Esses hormônios estimulam a secreção de insulina, a expressão do gene da insulina e o crescimento das células beta pancreáticas. Além disso, medeiam o efeito das incretinas que aumenta a secreção de insulina após a administração oral de glicose. Os pacientes com DM2 têm níveis reduzidos de GLP-1 e diminuição da sensibilidade para GIP. Portanto, a inibição da DPP-4 aumenta a circulação de GLP-1 endógeno ativo, aumentando a secreção de insulina dependente da glicose, prevenindo a inativação GLP-1 endógeno ativo, produzindo um efeito anti-hiperglicêmico (BÖSENBERG; VAN ZYL, 2008).

Os inibidores da DPP-4, por inibirem a degradação do GIP e, potencialmente, outros peptídeos envolvidos na regulação da homeostase da glicose, tem efeitos benéficos adicionais no tratamento do diabetes. Em estudos clínicos realizados por Thornberry e colaboradores (2009) demonstraram que os inibidores da DPP-4, não apresentaram efeitos colaterais graves. Este fármaco também pode ser usada como monoterapia na diabetes tipo 2 ou em combinação com outros medicamentos. A sitagliptina é administrada por via oral e demonstrou reduzir os níveis de hemoglobina glicada (HbA1C) em 0,6 - 1% (BÖSENBERG; VAN ZYL, 2008; THORNBERRY; GALLWITZ, 2009).

3.4 ESTUDOS DE PRÉ-FORMULAÇÃO

Para o desenvolvimento de formas farmacêuticas, é importante realizar os estudos de pré-formulação, pois os parâmetros do fármaco e excipiente influenciam no produto final. É pertinente conhecer as propriedades físicas e químicas intrínsecas do fármaco e dos excipientes tanto individualmente quanto combinados, tendo como objetivo a produção de formas farmacêuticas estáveis e com biodisponibilidade adequada (CHAURAISA, 2016).

Desta forma, a avaliação de alguns parâmetros como: estudo do estado sólido, estabilidade, compatibilidade no estado sólido, análise térmica, perfil de solubilidade, forma cristalina, propriedades de compactação, entre outros, otimizam o processo de desenvolvimento de novos medicamentos (CHAURAISA, 2016).

3.5 CARACTERIZAÇÃO NO ESTADO SÓLIDO DA MATÉRIA-PRIMA

A caracterização no estado sólido da matéria-prima consiste na determinação das propriedades físico químicas dos fármacos ou adjuvantes, em seu estado sólido (MUNSON, 2009). As análises no estado sólido classificam as propriedades físicas das moléculas, e se referem a partículas sólidas individuais, ou em nível de massa, que estão associados com um conjunto de espécies de partículas (BRITTAİN, 2011).

Tais estudos são importantes para a determinação de estrutura e propriedades do sólido, avaliando o comportamento das partículas que o compõem, uma vez que diferentes níveis de interações podem causar alteração da disponibilidade do fármaco assim como da estabilidade da formulação (BERNARDI et al., 2009; BRITTAİN, 2011; MURAKAMI et al., 2009a).

Outra importante análise é a interação entre fármaco-excipiente, que busca verificar a compatibilidade físico-química entre eles, uma vez que os excipientes devem ser inertes em relação à atividade farmacológica do princípio ativo (MURAKAMI et al., 2009a).

Os métodos usualmente utilizados para o estudo no estado sólido de uma matéria-prima, são: calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), difração de raios-X de pó (DRXP), espectroscopia no infravermelho com transformada de Fourier (FTIR), espectroscopia de Raman e microscopia eletrônica de varredura (MEV) (BERNARDI et al., 2009; MURAKAMI et al., 2009a).

3.5.1 ANÁLISE TÉRMICA

Os métodos de análise térmica aplicados na área farmacêutica são utilizados desde os anos 1970 nas universidades e nos laboratórios de pesquisa e hoje são técnicas bem estabelecidas, sendo estas um grupo de técnicas nas quais uma propriedade da amostra é avaliada com relação ao tempo ou a temperatura (GIRON, 2002).

A calorimetria exploratória diferencial (DSC) é uma técnica de análise térmica na qual avalia-se a diferença de energia fornecida à substância e a um material referência (termicamente estável) em função da temperatura, enquanto a substância e o material referência são submetidos a uma programação controlada de temperatura. A calorimetria exploratória permite determinações quantitativas, estando a área dos picos relacionada com a energia envolvida no processo, sendo utilizados padrões para calibração do equipamento (BERNAL et al., 2002; IONASHIRO, 2004; SILVA; PAOLA; MATOS, 2007).

Desta forma, através a DSC pode-se identificar fenômenos físico ou químico, como: transições cristalinas, fusão evaporação e sublimação, ou qualquer outra modificação na variação de entalpia. Além de avaliar a pureza e compatibilidade entre fármaco e excipientes (DENARI, 2013).

Já a termogravimetria (TG) fornece informações com relação às variações de massa em função do tempo e/ou temperatura sob determinadas condições atmosféricas e é apropriada para se obter parâmetros cinéticos químicos, oferecendo informações sobre as propriedades térmicas do material, além de fornecer informações em relação a fenômenos químicos, como: quimiossorção, dessolvatação, decomposição, degradação oxidativa, degradação redutiva, reações em estado sólido (DE LA FUENTE et al., 2011; DING et al., 2016; IONASHIRO, 2004; SILVA; PAOLA; MATOS, 2007).

3.5.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X, ESPECTROSCOPIA E MICROSCOPIA

A difração de raios-X (DRX) é uma técnica caracterização de estruturas cristalográficas. Foi demonstrado ser uma ferramenta adequada para uma variedade

de aplicações, incluindo identificação de materiais ilícitos, substâncias controladas e explosivos (DICKEN et al., 2015).

O DRX baseia-se na dispersão de radiação eletromagnética, a qual possui altas energias e comprimentos de onda curtos e da ordem dos espaçamentos atômicos nos sólidos. Desta forma, quando um feixe de raios-X incide na amostra, uma fração será dispersa em todas as direções pelos elétrons, que estão relacionados a cada átomo ou íon que esteja na trajetória do feixe, determinando assim, a estrutura intrínseca do cristal de acordo com o ângulo que foi desviado na análise. Quando a dispersão do feixe tem o mesmo comprimento de onda do feixe incidente, a interferência é construtiva e satisfaz a Lei de Bragg a qual, expressa uma relação matemática em relação a este desvio (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2003; SNELLINGS et al., 2010).

Os feixes difratados geram difratogramas, os quais fornecem informações quanto as propriedades fundamentais dos materiais no estado cristalino, bem como das características da unidade celular do cristal e sua simetria (SKOOG; HOLLER; NIEMAN, 2003).

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) explora o fato de que diferentes grupos funcionais químicos absorvem específico comprimento de onda em um intervalo de infravermelho médio. Desta forma, a análise de espectros fornece informações sobre grupos funcionais que podem ser úteis para a identificação de compostos (PELUSI et al., 2016).

A espectroscopia de Raman é uma técnica analítica complementar a espectroscopia de Infravermelho, no âmbito de identificação sobre a amostra analisada. Esta técnica está baseada na detecção de luz espalhada inelasticamente, sendo a colisão inelástica entre o fóton incidente (radiação monocromática) e a molécula (PENCKE; MAHADEVAN-JANSEN, 2016).

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier e Raman são técnicas sensíveis à estrutura e ao ambiente dos compostos orgânicos. Essas técnicas não são focadas apenas no comportamento do estado sólido de fármacos e suas formulações, mas também são usadas como ferramenta de triagem de compatibilidade, já que as mudanças vibracionais servem como uma sonda de possíveis interações intermoleculares entre os componentes (CHADHA; BHANDARI, 2014).

A imagem eletrônica da microscopia eletrônica de varredura (MEV) é formada pela incidência de um feixe de elétrons sobre a amostra, transmitindo o sinal do detector para uma tela catódica onde, a varredura está sincronizada com aquele feixe incidente. A imagem gerada a partir do sinal captado na varredura eletrônica de uma superfície pode apresentar diferentes características, uma vez que a imagem resulta da amplificação de um sinal obtido de uma interação entre o feixe eletrônico e o material da amostra. Este sinal pode apresentar níveis elevados de magnificação auxiliando na caracterização de materiais polimórficos e solvatos (BRITAIN, 2011; DUARTE et al., 2003).

O MEV é uma técnica utilizada em várias áreas do conhecimento, pois permite a identificação da morfologia e informações acerca das formas dos cristais, ou seja, os hábitos das estruturas cristalinas. Também, possibilita uma avaliação qualitativa e quantitativa de cristais através da observação da homogeneidade e determinação do tamanho e forma das partículas (MURAKAMI et al., 2009).

3.6 FORMAS FARMACÊUTICAS

A definição de forma farmacêutica segundo a farmacopeia brasileira é: “o estado final de apresentação dos princípios ativos farmacêuticos após uma ou mais operações farmacêuticas executadas com a adição ou não de excipientes apropriados a fim de facilitar a sua utilização e obter o efeito terapêutico desejado, com características apropriadas a uma determinada via de administração” (BRASIL, 2010).

Formas farmacêuticas são utilizadas para otimizar a resposta terapêutica através de revestimento entérico, ação controlada, inserção diretamente na circulação sanguínea, ou ainda protegem o fármaco de degradações oxidativas do ambiente. As formas farmacêuticas são classificadas em sólidas, semi-sólidas e líquidas (AULTON, 2016).

Dentre as formas farmacêuticas sólidas, tem-se: comprimidos, cápsulas, grânulos, pós, pastilhas e óvulos. As formas sólidas apresentam vantagens por possuírem dosagem mais precisa e exata, significativa estabilidade, possibilidade de mascarar as características organolépticas, facilidade de transporte e manuseio do produto, reprodutibilidade, baixos custos de fabricação, além de possuírem propriedades físico-químicas e microbiológicas mais estáveis do que qualquer outra forma farmacêutica (NIE; BYRN; ZHOU, 2017; TOLLER; SCHIMDT, 2005).

3.6.1 COMPRIMIDOS ORODISPERSÍVEIS

Os comprimidos orodispersíveis (ODT) são formas de dosagem sólidas orais que rapidamente se desintegram ou dissolvem em contato com a saliva sem a necessidade de água (MOQBEL; ELMESHAD; EL-NABARAWI, 2017a).

Estes comprimidos que possuem uma rápida desintegração na boca juntamente com a imediata liberação do princípio ativo podem ser denominados como comprimidos de rápida desintegração, comprimidos de dissolução bucal, rápida dissolução, fusão rápida e comprimidos porosos. Todos esses termos são aceitos pela farmacopeia americana (USP). Já a farmacopeia Europeia utiliza o termo comprimidos orodispersíveis, em inglês: *orally disintegrating tablets* (ODT), para aqueles comprimidos que se desintegram na boca, dentro de um intervalo de 3 minutos. O FDA define esses comprimidos como: “forma de dosagem sólida que contém uma substância medicinal ou ingrediente ativo que desintegra dentro de questão de segundos quando colocado sobre a língua” (BROWN, 2003; FU et al., 2004).

Assim como as demais formas farmacêuticas sólidas, os ODT possuem vantagens como: boa estabilidade, fácil manuseio pelo paciente, tamanho acessível e rápida biodisponibilidade do fármaco otimizando a intervenção terapêutica (KUCHEKAR; ATUL, 2003; S BIRADAR, S BHAGAVATI, 2005). Os ODT também fornecem uma solução prática para pessoas que têm dificuldade em engolir (disfasia) incluindo pacientes pediátricos e geriátricos, bem como pacientes hospitalizados ou acamados, pois não obstruem a glote, evitando sufocamento, uma vez que se desintegram na boca (BROWN, 2003; MOQBEL; ELMESHAD; EL-NABARAWI, 2017a).

Estudo demonstrados por Dey e Maiti (2010) mostram que comprimidos de rápida desintegração aumentam a biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis. Isso pode ser justificado pelo processo de desenvolvimento do comprimido, pelo fato de ser poroso e também, quando este entra em contato com a saliva o ativo logo é disperso ficando biodisponível mais rapidamente para seu local de absorção.

Os requisitos básicos para um bom comprimido orodispersível são: ter uma rápida desintegração, ter porosidade suficiente que permita a rápida absorção de água e ao mesmo tempo mantenha uma elevada resistência mecânica. Porém o armazenamento dos ODT deve ser realizado em blíster com maior resistente que os

comuns, devido a característica de baixa friabilidade destes comprimidos (FU et al., 2004).

O comprimido orodispersível está sendo visto como uma opção atraente, uma vez que os ODT evoluíram de uma formulação especial para pacientes com dificuldade de deglutição para uma formulação de valor agregado que é esperado para melhorar a adesão à medicação, como em pessoas com doenças relacionadas com o estilo de vida ou síndromes metabólicas (tais como diabetes, hiperlipidemia e hipertensão) (NAKANO et al., 2013).

3.6.2 TÉCNICA PARA PREPARAÇÃO DE COMPRIMIDOS ORODISPERSÍVEIS

A técnica de compressão direta é a maneira mais fácil de fabricar comprimidos, pois são utilizados equipamentos convencionais, comumente disponíveis (UGHDE; DESHMANE; BIYANI, 2015).

A compressão direta é o processo da mistura física entre fármaco e excipientes submetida à compactação. Este processo é o mais adequado para a fabricação contínua de comprimidos farmacêuticos, devido ao número reduzido de operações unitárias que precisam ser integradas para fabricação contínua. A produção de comprimidos envolve, basicamente três etapas: pesagem, mistura e compressão, sendo a mistura de pó transformada diretamente em um comprimido sem quaisquer etapas intermediárias, como processo de granulação, secagem e redução do tamanho dos grânulos, o que diminui as perdas em processo e possíveis erros em função de sucessivas etapas de manipulação da formulação, como é o caso da granulação via úmida. Além do tempo de fabricação reduzido, e o número reduzido de etapas de fabricação, o método é também considerado mais favorável, em termos de qualidade, pois envolve menos parâmetros críticos que garantem a robustez do processo e a qualidade consistente dos medicamentos produzidos. Finalmente, estes fatores elegem o processo de compressão direta, como a técnica de mais interesse na indústria farmacêutica (CHATTORAJ; SUN, 2018; TOLLER; SCHIMDT, 2005).

3.7 CONTROLE DE QUALIDADE

Na produção do medicamento, procedimentos operacionais padrões e controles de processos precisam ser estabelecidos. Por esse motivo, para efetivar o processo de produção e a garantia da qualidade dos medicamentos, a ANVISA dispõe requisitos sobre as boas práticas de fabricação na RDC nº 17 de 2010 (BRASIL, 2010).

Em relação aos testes no produto acabado, estes devem cumprir alguns critérios preconizados por compêndios oficiais. Os métodos envolvem desde a análise da matéria-prima até a quantificação do teor do fármaco no medicamento. Dentre os testes para avaliação da qualidade dos medicamentos é necessário analisar o peso médio, dissolução, desintegração, dureza, friabilidade, doseamento, teste de esterilidade, teste de pirogênio e contagem microbiana (BRASIL, 2010).

3.8 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA

A validação de métodos analíticos é realizada para garantir que uma metodologia analítica seja precisa, específica, reprodutível e robusta no intervalo específico no qual um analito será analisado (SHABIR, 2003).

A validação deve demonstrar que o método analítico produz resultados confiáveis e é adequado à finalidade a que se destina, de forma documentada e mediante critérios objetivos, e devem seguir as exigências de órgãos reguladores como ANVISA, conforme descritos na RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017, a Farmacopéia Americana e também a *International Conference on Harmonisation of Technical Requirements for Registration of Pharmaceuticals for Human Use* (ICH) (BRASIL, 2017a; ICH, 2005; USP, 2016a).

CAPÍTULO I

CARACTERIZAÇÃO FÍSICO-QUÍMICA DA SITAGLIPTINA

RESUMO

A sitagliptina (STG) é um inibidor da enzima dipeptidil peptidase-4 (DPP-4), utilizada para tratamento de Diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2). A estrutura cristalina da STG determina as propriedades físico-químicas assim como a solubilidade, estabilidade, processabilidade e a biodisponibilidade do fármaco, tal qual a presença de solvatos e hidratos na molécula influenciam nas propriedades físico-químicas dos cristais. Desta forma, a caracterização físico-química de um ingrediente farmacêutico ativo (IFA) é essencial para o desenvolvimento racional de um medicamento. Portanto, estudos de caracterização em estado sólido do fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), do fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e da forma base de sitagliptina (STGB) foram realizados por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e termogravimetria/derivada da termogravimetria (TG/DTG), técnicas de espectroscopia (FTIR, DRX, Raman) e análise morfológica por microscopia eletrônica de varredura (MEV), a fim de obter a caracterização e avaliação da cristalinidade do fármaco. Através da técnica termoanalítica observou-se que após a desidratação da STG ($T_{\text{peak}} = 134,43\text{ }^{\circ}\text{C}$, $\Delta H = -1,15\text{ J g}^{-1}$), ocorre um evento característico de transição cristalina, alterando as características físico-químicas da amostra como ponto de fusão do composto e solubilidade. Na STGB observou-se que na forma base apresenta um comportamento diferente da forma fosfatada e monoidratada, sendo a principal diferença observada através do evento de fusão inferior. Em relação à termoestabilidade, a STG e STGA apresentaram discreta diferença, entretanto ambas são mais termoestáveis no que se refere a molécula desfosfatada. A partir das análises realizadas, foi possível estabelecer a forma cristalina mais indicada para desenvolvimento de formulas farmacêuticas seguras, eficazes e com qualidade, além de biodisponibilidade adequada.

Palavras-chaves: Cristalinidade, caracterização no estado-sólido, propriedades físico-químicas, solubilidade, biodisponibilidade.

1. INTRODUÇÃO

A sitagliptina (Figura 1) é um inibidor da enzima dipeptidil peptidase-4 (DPP-4), que consequentemente inibe a degradação das incretinas, como peptídeo semelhante ao glucagon-1 (GLP-1) e peptídeo insulínico dependente de glicose (GIP), resultando no aumento da secreção de insulina e inibição da liberação de glucagon pelas células beta e alfa do pâncreas, melhorando o controle glicêmico (BERGER et al., 2018; GREEN et al., 2015).

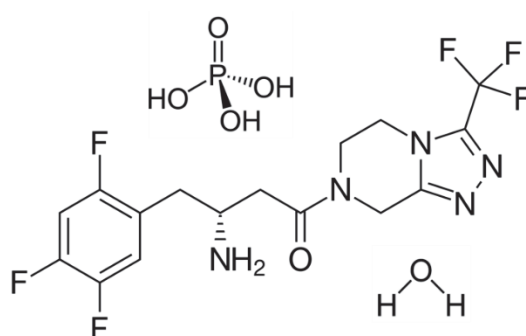


Figura 1. Estrutura química do fosfato de sitagliptina monoidratado

Desta forma, a sitagliptina (7 - [(3R) -3-amino-1-oxo-4- (2,4,5- trifluorofenil) butil] -5,6,7,8-tetra-hidro-3- (trifluorometil) -1,2, 4-triazolo [4,3-a] pirazina) trata-se de um fármaco anti-glicêmico eficaz, utilizado para o tratamento de diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2) (REMM et al., 2018). O produto original é comercializado pela Merck & Co sob o nome comercial de Januvia® como fosfato de sitagliptina monoidratado, aprovada em 2006 pelo *Food and Drug Administration* (FDA) (DOGGRELL; DIMMITT, 2016; TIEGER et al., 2017).

O fosfato de sitagliptina monoidratado é um pó branco a esbranquiçado, cristalino, não higroscópico, solúvel em água e *N,N*-dimetilformamida, ligeiramente solúvel em metanol e muito pouco solúvel em etanol, acetona e acetonitrila. A sua fórmula molecular é $C_{16}H_{15}F_6N_5O \cdot H_3PO_4 \cdot H_2O$ e o peso molecular é de 523,32 g mol⁻¹ (SIRIGIRI, 2018).

A formação de hidratos é de grande importância na indústria farmacêutica, pois, devido à onipresença do vapor de água, os hidratos são frequentemente a forma estável (TIEGER et al., 2017). Sendo assim, a presença de solvatos e hidratos na molécula influenciam nas propriedades físico-químicas dos cristais (DATTA; GRANT, 2004).

A estrutura de um cristal determina não apenas as propriedades físico-químicas do IFA, mas também afeta a solubilidade, estabilidade, processabilidade e a biodisponibilidade do fármaco (DATTA; GRANT, 2004).

A solubilidade é um dos parâmetros importantes para alcançar a concentração desejada de fármaco na circulação sistêmica para alcançar a resposta farmacológica necessária. Fármacos fracamente solúveis em água, com uma absorção lenta do fármaco, conduzem a uma biodisponibilidade inadequada (KHADKA et al., 2014; SAVJANI; GAJJAR; SAVJANI, 2012).

A diferenciação entre as formas da sitagliptina é uma parte importante no desenvolvimento de um medicamento (TIEGER et al., 2017). Diante disso, a caracterização no estado sólido através de técnicas analíticas apropriadas, é essencial para determinar as complexas propriedades físicas dos solvatos e hidratos (MURAKAMI et al., 2009a). Como por exemplo com o de análise térmica que é uma técnica bem conhecida para a caracterização de IFAs em termos de investigações estruturais e de estabilidade (GIRON, 2002).

Através do entendimento das relações entre as estruturas físicas e as propriedades dos sólidos farmacêuticos é possível a seleção da forma mais adequada de um ingrediente farmacêutico ativo para o desenvolvimento de um medicamento.

Assim, o objetivo desse capítulo foi realizar a caracterização do estado sólido do fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), do fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e da forma base de sitagliptina (STGB), avaliando as características físico-químicas através de diversas técnicas analíticas, como calorimetria exploratória diferencial (DSC), termogravimetria (TG), análise cinética não-isotérmica, técnicas de espectroscopia (FTIR e RAMAN), difração de raios-X em pó (DRXP) e microscopia eletrônica varredura (MEV).

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1 MATERIAL

O ingrediente ativo fosfato de sitagliptina monoidratado (STG) com teor declarado de 99,9%, lote 20170904, foi adquirido da empresa Baoji Guokang Bio-Technology (China).

2.2 DESIDRATAÇÃO DO FOSFATO DE SITAGLIPTINA MONOIDRATADA

A desidratação do fosfato de sitagliptina monoidratada (STG) foi obtida a partir da submissão de 2,5g de amostra em estufa a vácuo (VACUOTERM modelo 6030A) por 60 minutos a 150 °C a 300-400 mmHg.

2.3 DESFOSFATAÇÃO DO FOSFATO DE SITAGLIPTINA

A preparação da forma base de sitagliptina (STGB) foi obtida a partir da dissolução de 0,008 mol g⁻¹ de fosfato de sitagliptina monoidratada em 92,10 mL de água purificada, então foi adicionada amônia 10% até pH 10,0. Em seguida a solução foi colocada em funil de separação e lavada 2 vezes com 83,73 mL de acetato de etila. A fase orgânica foi seca com sulfato de sódio anidro e filtrada em papel de filtro quantitativo. O filtrado foi evaporado em rotaevaporador e posteriormente seco em temperatura ambiente em dessecador a vácuo até obtenção de um cristal sólido branco (Rendimento 92,0%) (PERLMAN et al., 2009).

2.4 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

Para análise de calorimetria exploratória diferencial (DSC) foi utilizado o calorímetro DSC-60 da Shimadzu®. As amostras foram analisadas em cadinho de alumínio contendo aproximadamente 2,0 mg de amostra sob atmosfera dinâmica de ar sintético (50 mL min⁻¹), razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e com faixa de temperatura de 30-400 °C. O equipamento foi previamente calibrado com padrão de referência de índio e zinco.

A determinação da pureza foi realizada em célula calorimétrica DSC-60 Shimadzu utilizando cadinhos de alumínio com cerca de 2,0 mg de amostra sob atmosfera dinâmica de ar sintético de 50 mL min⁻¹, com razão de aquecimento de 2 °C min⁻¹ até a temperatura de 400 °C.

A pureza da amostra foi calculada em triplicata pelo software TASYs (Shimadzu®). Baseando-se na equação de Van't Hoff:

$$X_2 = \frac{(T_o - T_m)\Delta H_f}{RT_o^2}$$

Onde a pureza é determinada através da porcentagem molar das impurezas presente na amostra, X_2 represente a fração molar das impurezas, T_m é a temperatura de fusão da amostra, T_o é o ponto de fusão da substância pura (° K), R é a constante dos gases e ΔH_f é o calor de fusão do principal componente (J mol⁻¹) (BRASIL, 2010; VEIGA et al., 2018).

2.5 TERMOGRAVIMETRIA (TG)

Para realizar a análise termogravimétrica foi utilizado o analisador térmico DTG-60 da Shimadzu®, utilizando cadinho de platina com aproximadamente 4,0 mg de amostra, razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ sob atmosfera dinâmica de ar sintético (50 mL min⁻¹) e com faixa de temperatura de 30-400 °C.

Para o estudo cinético não isotérmico, as curvas foram obtidas em razão de aquecimento de 5, 10, 15, 20, 25 °C min⁻¹. Os parâmetros cinéticos foram determinados através do método de Ozawa usando o software TASYs (Shimadzu®). O equipamento foi previamente calibrado com padrão de referência de oxalato de cálcio.

2.6 TERMOGRAVIMETRIA – ESPECTROMETRIA DE MASSAS (TG-MS)

A termogravimetria acoplada à espectrometria de massas foi utilizada para estudar a decomposição térmica do fosfato de sitagliptina monoidratado. A análise foi realizada em SDT Q600 MS da TA Instruments®. Foram utilizados aproximadamente 2,0 mg de amostra aquecidas até 900 °C, sob atmosfera dinâmica de ar sintético (50

mL min⁻¹) e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹. O equipamento gera curva TG e espectros de MS separados, analisando intensidade massa/carga (m/z) em relação à temperatura.

2.7 PONTO DE FUSÃO

As análises de ponto de fusão foram realizadas em sistema de ponto de fusão MP70 da Mettler-Toledo, utilizado capilar com fundo fechado e razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ com limite de temperatura de 400 °C.

2.8 SOLUBILIDADE

A análise de solubilidade foi realizada a partir da dissolução de 1 g de um fármaco no número de mililitros do solvente estabelecido no número de partes, à temperatura de 25 °C (± 2 °C), conforme tabela 1. Este experimento foi realizado em triplicata (BRASIL, 2010).

Tabela 1. Termos descritivos de solubilidade e seus significados

Solvente	Termo descritivo
Muito solúvel	menos de 1 parte
Facilmente solúvel	De 1 a 10 partes
Solúvel	De 10 a 30 partes
Ligeiramente solúvel	De 30 a 100 partes
Pouco solúvel	De 100 a 1000 partes
Muito pouco solúvel	De 1000 a 10 000 partes
Praticamente insolúvel ou insolúvel	mais de 10 000 partes

2.9 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

As análises de infravermelho (FTIR) foram realizadas em equipamento Bruker Alpha P, utilizando reflexão total atenuada (ATR) em comprimento de onda entre 3500 e 500 cm^{-1} , com resolução nominal de 4 cm^{-1} e acumulação de 32 scans.

2.10 ESPECTROSCOPIA DE RAMAN

Os espectros de Raman foram obtidos em Microscópio Raman Confocal Witec alpha 300R, fonte de di-iodo-3 mW, grade de difração 600 g mm^{-1} , comprimento de onda do laser de 532 nm, tempo de integração 3 segundos, resolução de 0,02 cm^{-1} e acumulação de 30 scans.

2.11 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (DRXP)

Os padrões de difração de raios-X em pó foram determinados em difratômetro XRD-7000 da Shimadzu®, utilizando porta amostras de aço inoxidável de 20 mm, com radiação monocromática de Cu, voltagem 40.0 (kV), corrente de 20.0 (mA), ângulo de varredura Theta-2Theta e faixa de varredura 2.000 - 40.000.

2.12 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A avaliação morfológica foi realizada em microscópio eletrônico de varredura (MEV) JEOL JSM 6360-LV. A amostra foi previamente metalizada com ouro e analisada em baixo vácuo com voltagem de aceleração de 15 kV na magnificação de 200×, 600×, 2000× e 5000×.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 CARACTERIZAÇÃO TERMO-ANALÍTICA

O comportamento termooanalítico do fosfato de sitagliptina monoidratado (STG), nas curvas DSC e TG/DTG são mostrados na Figura 2. Através da curva DSC pode-se observar quatro eventos endotérmicos e seis eventos exotérmicos, sendo o primeiro evento endotérmico observado correspondente a desidratação da STG ($T_{\text{peak}} = 134,43\text{ }^{\circ}\text{C}$; $T_{\text{onset}} = 126,76\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = -1,15\text{ J g}^{-1}$), seguido de evento endotérmico bem definido ($T_{\text{peak}} = 142,30\text{ }^{\circ}\text{C}$; $T_{\text{onset}} = 140,61\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = -42,00\text{ J g}^{-1}$), correspondente a transição cristalina do fosfato de sitagliptina, onde não foi observado perda de massa na curva TG/DrTG. O terceiro evento endotérmico ($T_{\text{peak}} = 206,37\text{ }^{\circ}\text{C}$; $T_{\text{onset}} = 203,02\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = -104,97\text{ J g}^{-1}$) é característico de fusão, e está de acordo com a análise de ponto de fusão por capilar ($205,3\text{ }^{\circ}\text{C}$) e com os resultados descritos pela literatura (KARKHANIS, 2013). Os eventos térmicos subsequentes correspondem ao processo de decomposição.

A primeira perda de massa na curva TG/DrTG, entre $101\text{ }^{\circ}\text{C}$ e $136\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\Delta m = 2,9\%$; $\text{DrTG}_{\text{peak}} = 117,20\text{ }^{\circ}\text{C}$) confirma o evento de desidratação observado na curva DSC. O segundo evento de perda de massa indica que a decomposição térmica da STG ocorre em duas etapas, imediatamente após ao evento de fusão, na faixa $192\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $243\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\Delta m = 7,9\%$; $\text{DrTG}_{\text{peak}} = 232,81\text{ }^{\circ}\text{C}$) e faixa $243\text{ }^{\circ}\text{C}$ a $385\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\Delta m = 60,4\%$; $\text{DrTG}_{\text{peak}} = 300,57\text{ }^{\circ}\text{C}$), respectivamente. Desta forma, a curva TG/DrTG confirma a estabilidade térmica da STG até $192\text{ }^{\circ}\text{C}$.

A fim de realizar uma comparação do comportamento térmico das variações da molécula de STG, após a desidratação do fosfato de sitagliptina monoidratada (STG) foi realizada a análise DSC e TG, conforme Figura 3.

A curva DSC da STGA mostra dois eventos endotérmicos e três eventos exotérmicos. Sendo o primeiro evento endotérmico referente ao ponto de fusão ($T_{\text{peak}} = 214,92\text{ }^{\circ}\text{C}$; $T_{\text{onset}} = 212,58\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\Delta H = -104,84\text{ J g}^{-1}$) confirmado pela análise de ponto de fusão por capilar ($212,2\text{ }^{\circ}\text{C}$), e os eventos seguintes correspondem a decomposição térmica, sendo confirmado pela curva TG/DrTG, onde se observa que a decomposição térmica ocorre em três etapas com início em $216\text{ }^{\circ}\text{C}$ ($\text{DrTG}_{\text{peak}} = 234,24\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\text{DrTG}_{\text{peak}} = 278,74\text{ }^{\circ}\text{C}$; $\text{DrTG}_{\text{peak}} = 333,94\text{ }^{\circ}\text{C}$).

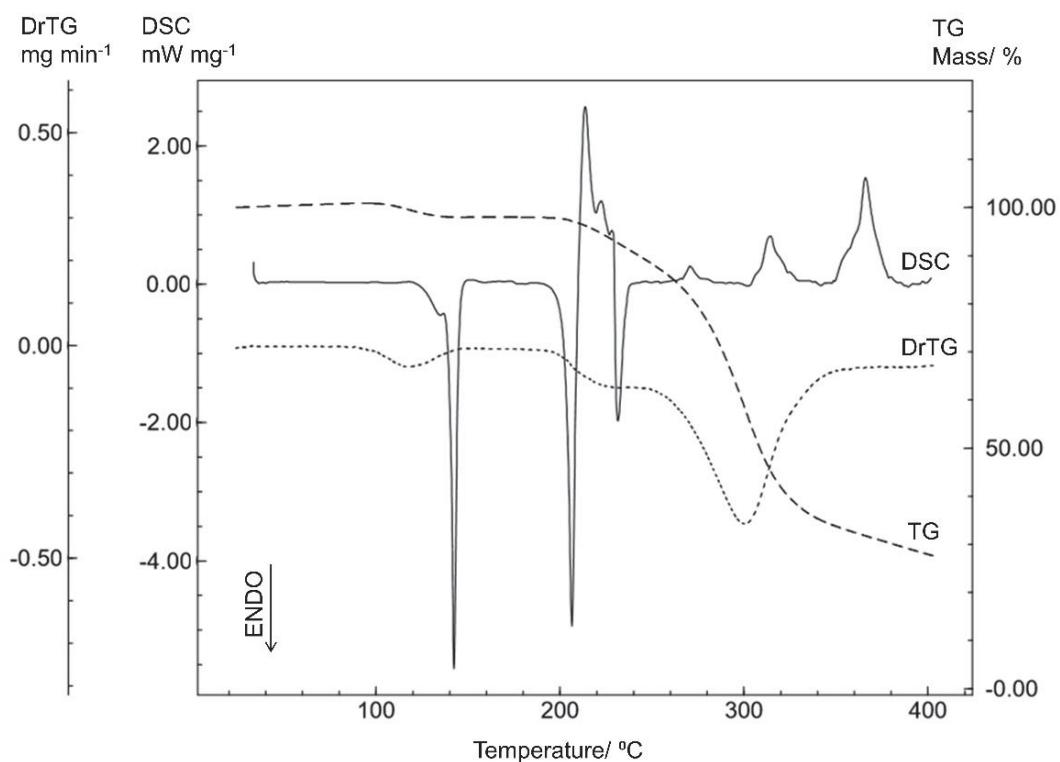


Figura 2. Curvas DSC e TG/DrTG do fosfato de sitagliptina monoidratado obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min⁻¹ e razão de 10 °C min⁻¹

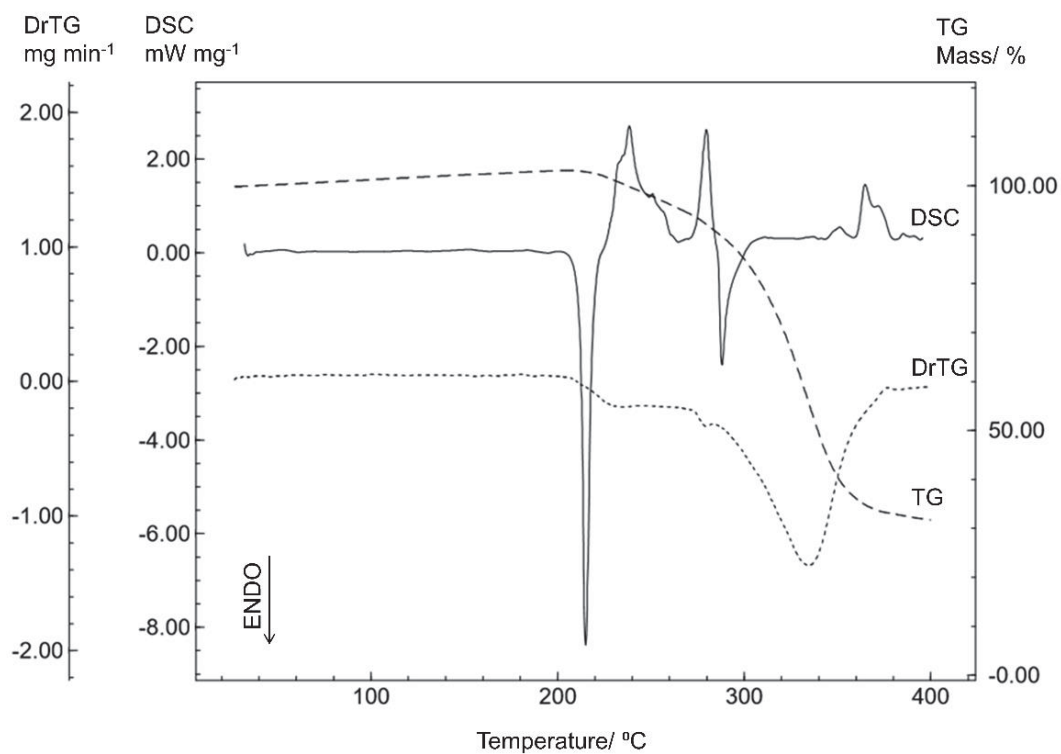


Figura 3. Curvas DSC e TG/DrTG do fosfato de sitagliptina anidra obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min⁻¹ e razão de 10 °C min⁻¹

Pode se observar também na Figura 3, que o primeiro evento endotérmico entre 125 e 145 °C, mostrado na curva da STG, não está presente nessa curva e não houve perda de massa indicada pela curva TG/DTG, confirmando que a água de cristalização não estava mais presente na molécula.

Apesar do perfil térmico do fosfato de sitagliptina anidra (STG) ser semelhante ao perfil de fosfato de sitagliptina monoidratado (STGA), este apresenta algumas diferenças, resultado da alteração da cristalinidade do fármaco, apresentado um ponto de fusão mais alto e perfil de decomposição em três etapas.

A curva DSC da forma base de sitagliptina (STGB), demonstrada na Figura 4, apresenta um único evento endotérmico, correspondente a fusão do composto ($T_{\text{peak}} = 120,29\text{ °C}$; $T_{\text{onset}} = 117,81\text{ °C}$; $\Delta H = -75,18\text{ J g}^{-1}$) confirmado pela análise de ponto de fusão por capilar (121,0 °C), seguindo de um evento exotérmico correspondente a decomposição térmica. A curva TG/DrTG indica que a decomposição térmica ocorre em duas etapas, na faixa de 193 °C a 272 °C ($\Delta m = 21,6\%$; $\text{DrTG}_{\text{peak}} = 244,53\text{ °C}$), e 272 °C a 367 °C ($\Delta m = 61,8\%$; $\text{DrTG}_{\text{peak}} = 325,33\text{ °C}$), mostrando estabilidade térmica até 193 °C.

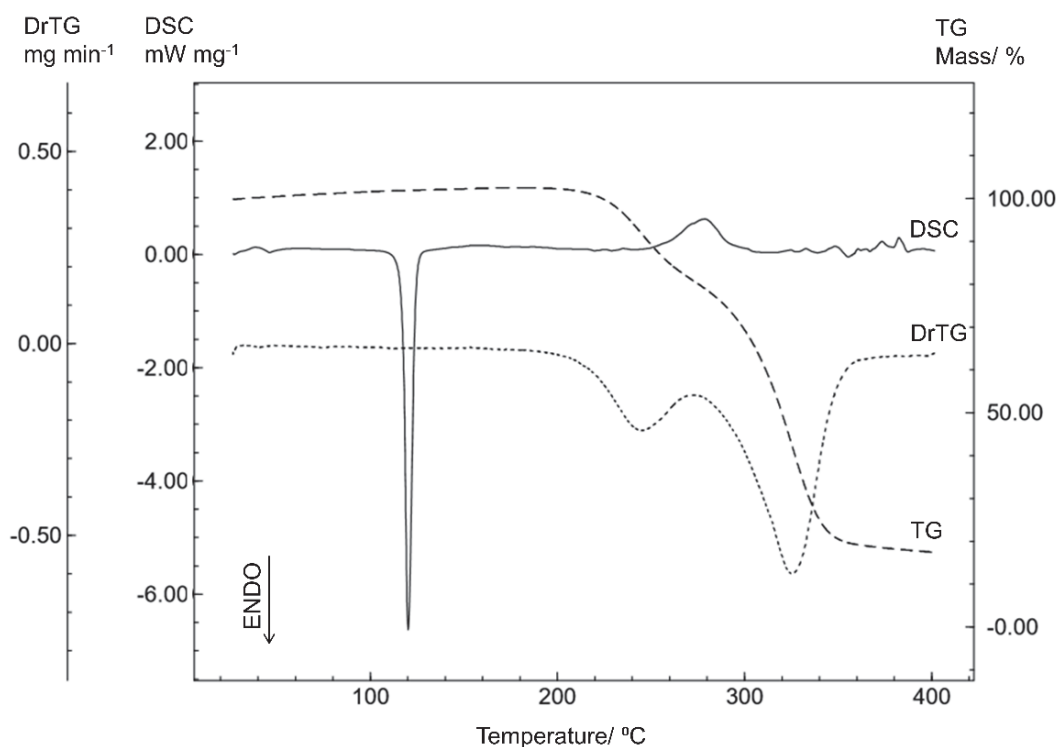


Figura 4. Curvas DSC e TG/DrTG da forma base de sitagliptina obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min⁻¹ e razão de 10 °C min⁻¹

Comparando a STGB com as demais, pode-se observar um perfil térmico diferente das outras moléculas, principalmente em relação ao evento de fusão, onde observa-se um ponto de fusão na STGB significativamente menor no que se refere a STG e STGA, sugerindo desta forma uma alteração na estrutura cristalina. Um estudo realizado por Murakami e colaboradores (2009) relatou comportamento semelhante para os sólidos cristalinos do omeprazol sódico.

A partir do perfil TG-MS (termogravimetria acoplado a espectrometria de massas) da amostra de STG, representado na Figura 5, pode-se observar os principais compostos voláteis liberados do fosfato de sitagliptina monoidratado sob aquecimento controlado. As prováveis moléculas relacionadas ao espectro de massas são: m/z 18 (H_2O), m/z 28 (CO), m/z 41 (C_2H_3N).

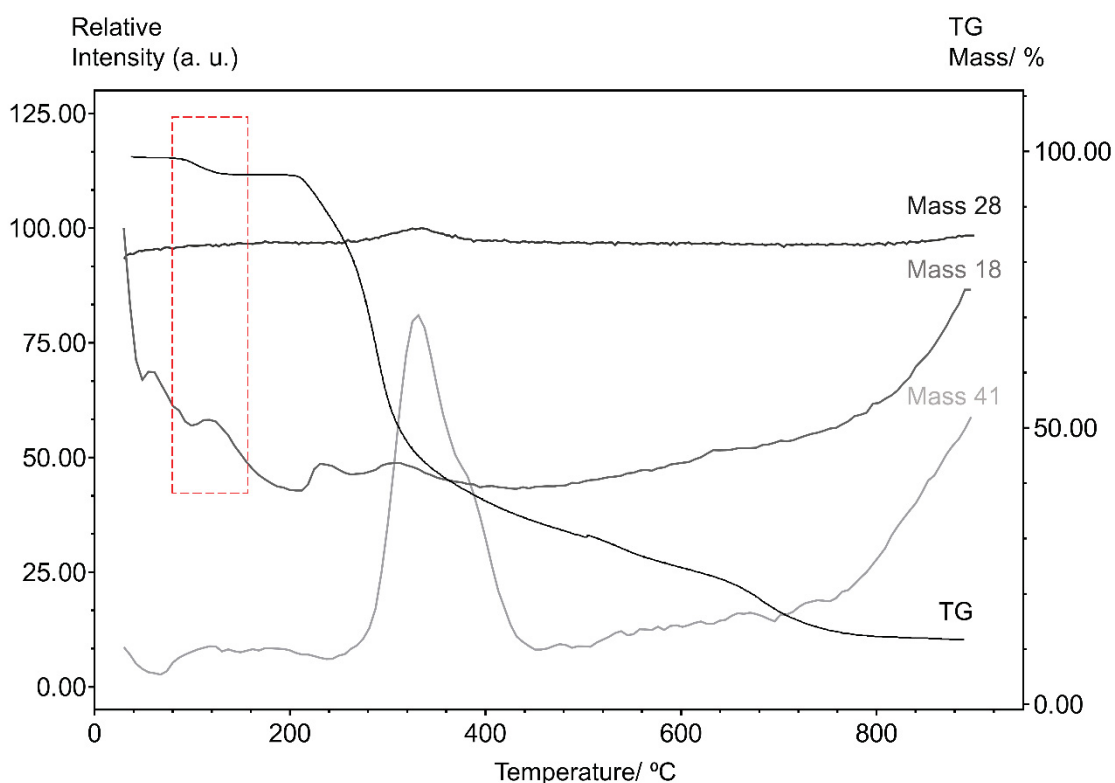


Figura 5. Curvas TG-MS do fosfato de sitagliptina monoidratado obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min^{-1} e razão de $10 \text{ }^{\circ}\text{C min}^{-1}$, com 350 scans.

Como observado nos resultados da curva termogravimétrica, a perda de massa inicial está associada a desidratação do composto, sendo comprovado pelo TG-MS, uma vez que m/z 18 apresenta maior intensidade em aproximadamente $117 \text{ }^{\circ}\text{C}$.

Posteriormente, no início do processo de decomposição, a m/z 18 apresenta aumento na liberação em 232 °C, estando relacionado com a água fortemente ligada a molécula. Próxima a 330 °C, observa-se a liberação das moléculas de CO, C₂H₃, devido a decomposição térmica do composto ocorrer rapidamente, de forma sucessiva e quase simultânea, o processo aparece como um único evento na curva TG. A partir da curva TG-MS observada, os estudo de degradação como de Vishnuvardhan et al. (2014), e levando em consideração a perda de massa de aproximadamente 71%, foi realizado uma proposta de decomposição térmica do fosfato de sitagliptina monoidratado conforme na Figura 6.

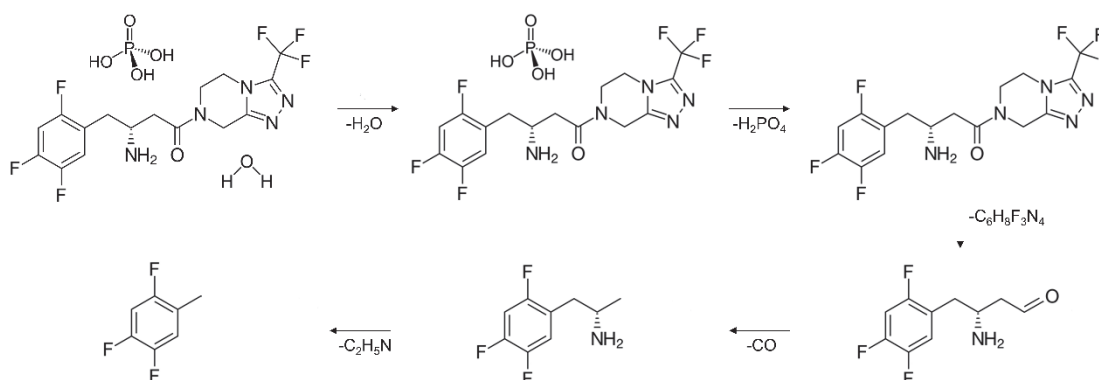


Figura 6. Proposta de decomposição térmica do fosfato de sitagliptina monoidratado.

3.2 ANÁLISE DE PUREZA

A determinação da pureza baseia-se no pressuposto de que uma impureza modifica as características de um material puro, alterando o evento endotérmico e a entalpia de fusão. As transições de fusão de um material puro (100% cristalino), deve ser estritamente agudo, e a presença de pequena quantidade de impurezas irão gerar uma redução no ponto de fusão e alargamento da faixa global de fusão (BERTOL et al., 2017). A Figura 7 mostra a análise de pureza, com uma pureza de 99,16% \pm 0,33 para STG, 97,79% \pm 0,87 para STGA e 98,32% \pm 0,62 para STGB.

Portanto, através desta análise, foram observados eventos de fusão, com picos endotérmicos definidos e simétricos. Isto indica que o processo de desidratação e desfosfatação do fármaco, não modificou as características de pureza.

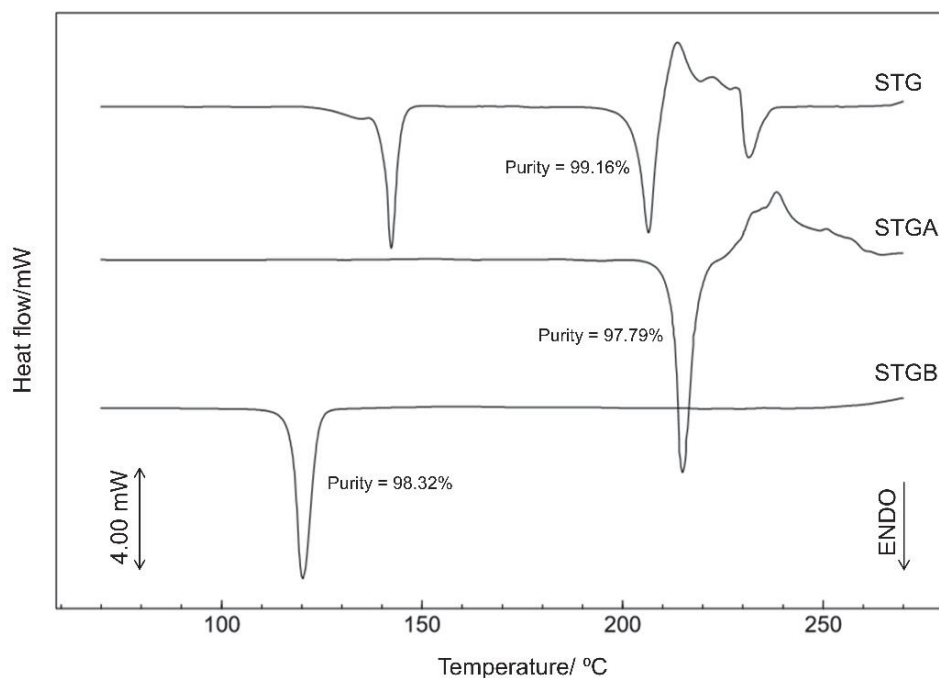


Figura 7. Curvas DSC: (a) STG, (b) STGA e (c) STGB obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min⁻¹ e razão de 2 °C min⁻¹

3.3 ANÁLISE CINÉTICA

A fim de avaliar a estabilidade das moléculas de STG, STGA e STGB, as amostras foram submetidas a análise cinética não-isotérmica, sendo calculadas através de cinco curvas TG obtidas em diferentes razões de aquecimento, o efeito da temperatura foi avaliado em relação a velocidade do processo de decomposição térmica e à ordem de reação.

A termogravimetria não-isotérmica com uma razão de aquecimento linear é uma técnica para estudar a cinética de processos, que permite determinar os parâmetros cinéticos de reações do estado sólido através do cálculo isoconversional. O método Flynn-Wall-Ozawa (FWO) é um dos métodos para estudar estes parâmetros cinéticos, onde é calculado a energia de ativação (E_a) através da termogravimetria de aquecimento dinâmico (CAI; LIU; HUANG, 2008; HSIEH et al., 2018).

O método isotérmico é baseado na equação de Arrhenius, e é dada pela seguinte equação:

$$\log \beta = \log[ZE_a/Rf(\alpha)] - 2.315 - 0.457(E_a/RT)$$

Onde, β é razão de aquecimento, Z é o fator pré-exponencial, E_a é a energia de ativação (J mol^{-1}), R é a constante dos gases; $f(\alpha)$ é a função de conversão integral e T é a temperatura ($^{\circ}\text{K}$). O logaritmo natural da razão de aquecimento ($\log \beta$) pelo inverso da temperatura ($1/T$), obtida das curvas TG em diferentes razões de aquecimento, será uma linha reta cuja inclinação, $-0,457(E_a/R)$, permite a avaliação da energia de ativação (FLYNN; WALL, 1966; HSIEH et al., 2018; MURAKAMI et al., 2009b; OZAWA, 1965).

As curvas TG obtidas para a análise cinética estão apresentadas nas Figura 8, Figura 9 e Figura 10. Ao sobrepor as curvas termogravimétricas observa-se o deslocamento para temperaturas mais elevadas conforme a razão de aquecimento aumenta e as figuras inseridas mostram a correlação das curvas, que demonstraram tendência linear para todas as amostras.

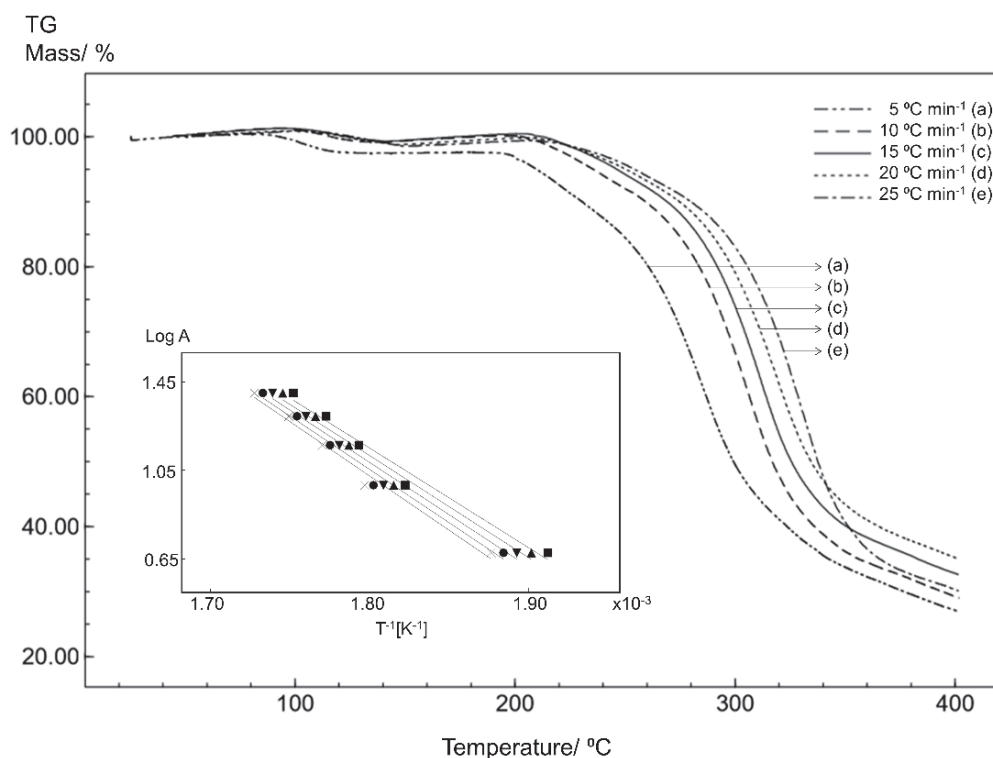


Figura 8. Curvas TG de STG obtida em diferentes razões de aquecimento sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min^{-1} . A inserção mostra a tendência linear e correlação das curvas através do método de Ozawa.

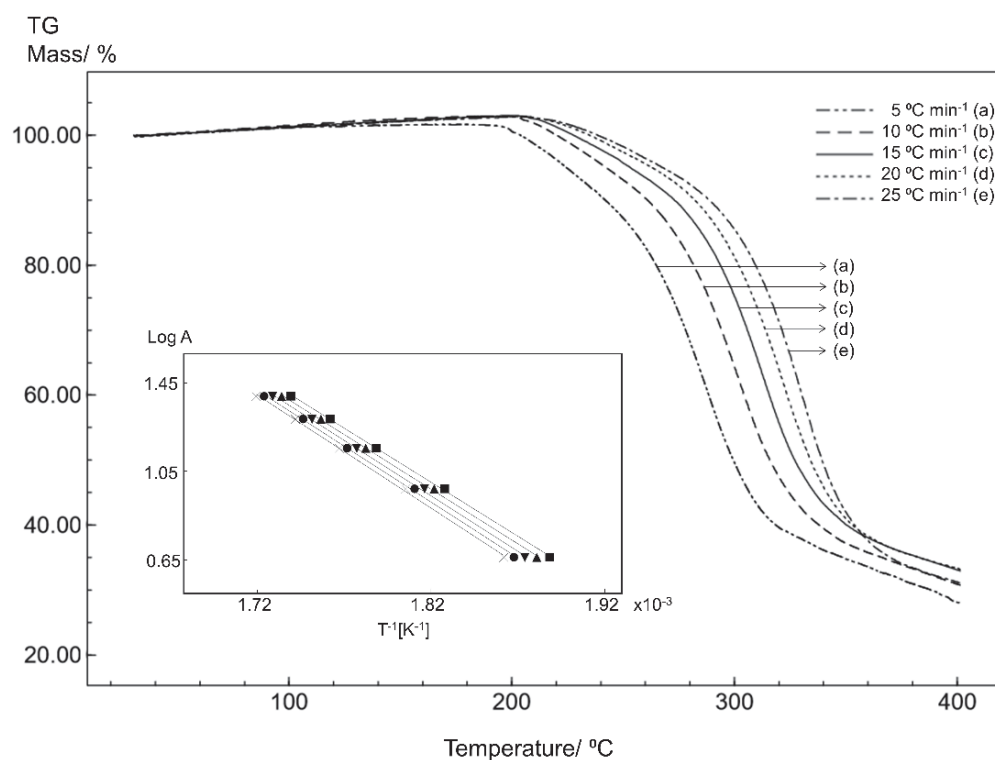


Figura 9. Curvas TG de STGA obtida em diferentes razões de aquecimento sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min⁻¹. A inserção mostra a tendência linear e correlação das curvas através do método de Ozawa.

Os parâmetros cinéticos obtidos para STG (Figura 8), STGA (Figura 9) e STGB (Figura 10), são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2. Parâmetros cinéticos obtidos para STG, STGA e STGB através da análise cinética não-isotérmica

	Energia de ativação (Ea)	Coefficiente de variação	Ordem de reação
STG	87,29 ± 2,881 kJ mol ⁻¹	3,301%	n = 0
STGA	88,84 ± 1,561 kJ mol ⁻¹	1,757%	n = 0
STGB	78,21 ± 2,591 kJ mol ⁻¹	3,313%	n = 0

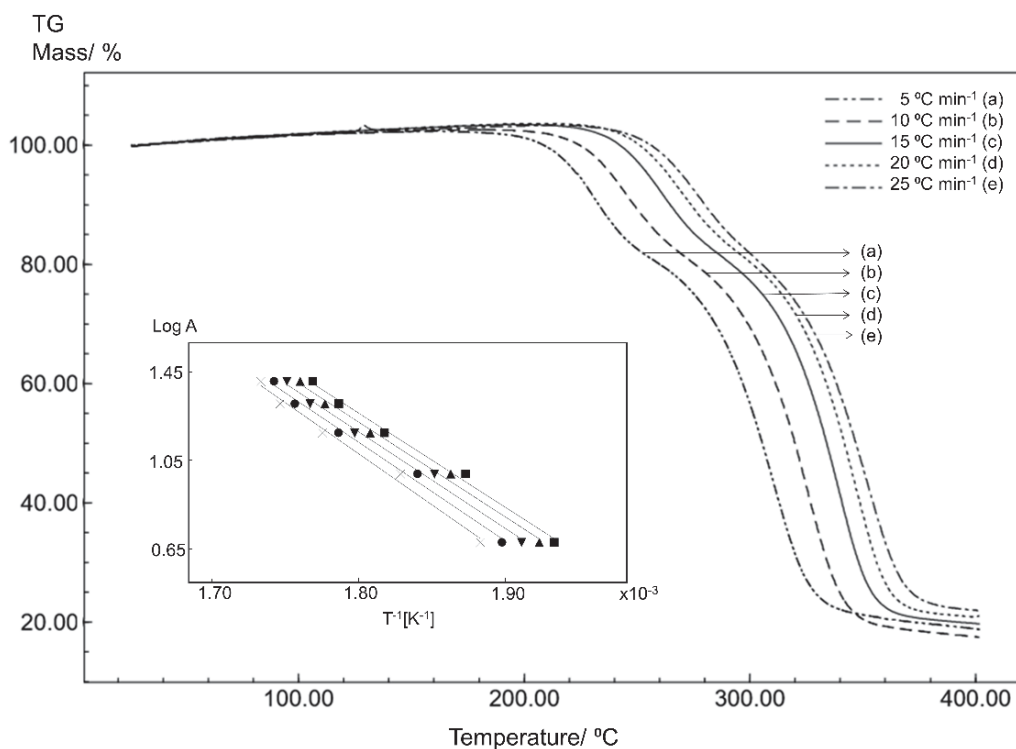


Figura 10. Curvas TG de STGB obtida em diferentes razões de aquecimento sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min⁻¹. A inserção mostra a tendência linear e correlação das curvas através do método de Ozawa.

De acordo com o estudo não isotérmico, os parâmetros de energia de ativação demonstram que o STGA apresenta uma energia de ativação levemente maior, ou seja, o processo de desidratação praticamente não alterou a estabilidade térmica do fármaco. Apesar da remoção da água da rede cristalina promover uma mudança estrutural, e alterar as propriedades físicas e químicas, esta mudança alterou discretamente a termoestabilidade do composto.

No que se refere a STGB, o estudo cinético revela que a STGB tem uma energia de ativação significativamente menor em relação a STG e STGA, demonstrando que a retirada do solvato fosfato da molécula de STG, reduziu a estabilidade térmica da amostra.

3.4 SOLUBILIDADE

A solubilidade dos fármacos é uma propriedade que influencia diferentes aspectos relativos à farmacocinética, estabilidade química da molécula e biodisponibilidade (MAXIMIANO; COSTA; SOUZA, 2010).

De acordo com a análise de solubilidade em água purificada, a STG foi classificada como solúvel, STGA como facilmente solúvel e a STGB como muito pouco solúvel.

3.5 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR-FTIR) é uma técnica sensível e utilizada para estudar qualquer forma física, tendo como principal vantagem pouca variação do espectro devido à preparação da amostra ser mínima (BEASLEY et al., 2014).

Na técnica de ATR-FTIR, a radiação infravermelha passa através de um cristal em um ângulo que faz com que o feixe de luz sofra múltiplas reflexões internas, criando uma onda evanescente que se estende além da superfície do cristal, consequentemente parte da energia incidente é absorvida pelos modos vibracionais da amostra, atenuando a onda evanescente que refletirá no cristal. Quando o feixe emergir do cristal, ele será detectado e processado, obtendo-se um padrão das bandas de absorção de infravermelho (BRITAIN, 2018; MOHAMED et al., 2017).

Analisando o comparativo entre os espectros de IR observados na Figura 11, podem se verificar bandas em comum nas três amostras, estando relacionado com os grupos funcionais que caracterizam a sitagliptina. A banda em 1465 cm^{-1} é característica de estiramento de alcanos (C-H), em $1680\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ a banda é referente a ligação C=O da carbonila, em $1690\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ refere-se ao grupo imina (C=N), a banda em $1350\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ é referente a vibração do fluoreto (C-F) e a banda $3200\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ está relacionado ao grupamento amina (NH_2) (KARKHANIS, 2013; MOHAMED et al., 2017; WAGH; PATWARDHAN; PATIL, 2017).

A principal diferença entre a STG e STGA/STGB, fica na região entre $3000\text{-}2500\text{ cm}^{-1}$ devido a vibrações de estiramento de O-H, característica da molécula de

água presente apenas na molécula de fosfato de sitagliptina monoidratado (FROST et al., 2013; KARKHANIS, 2013).

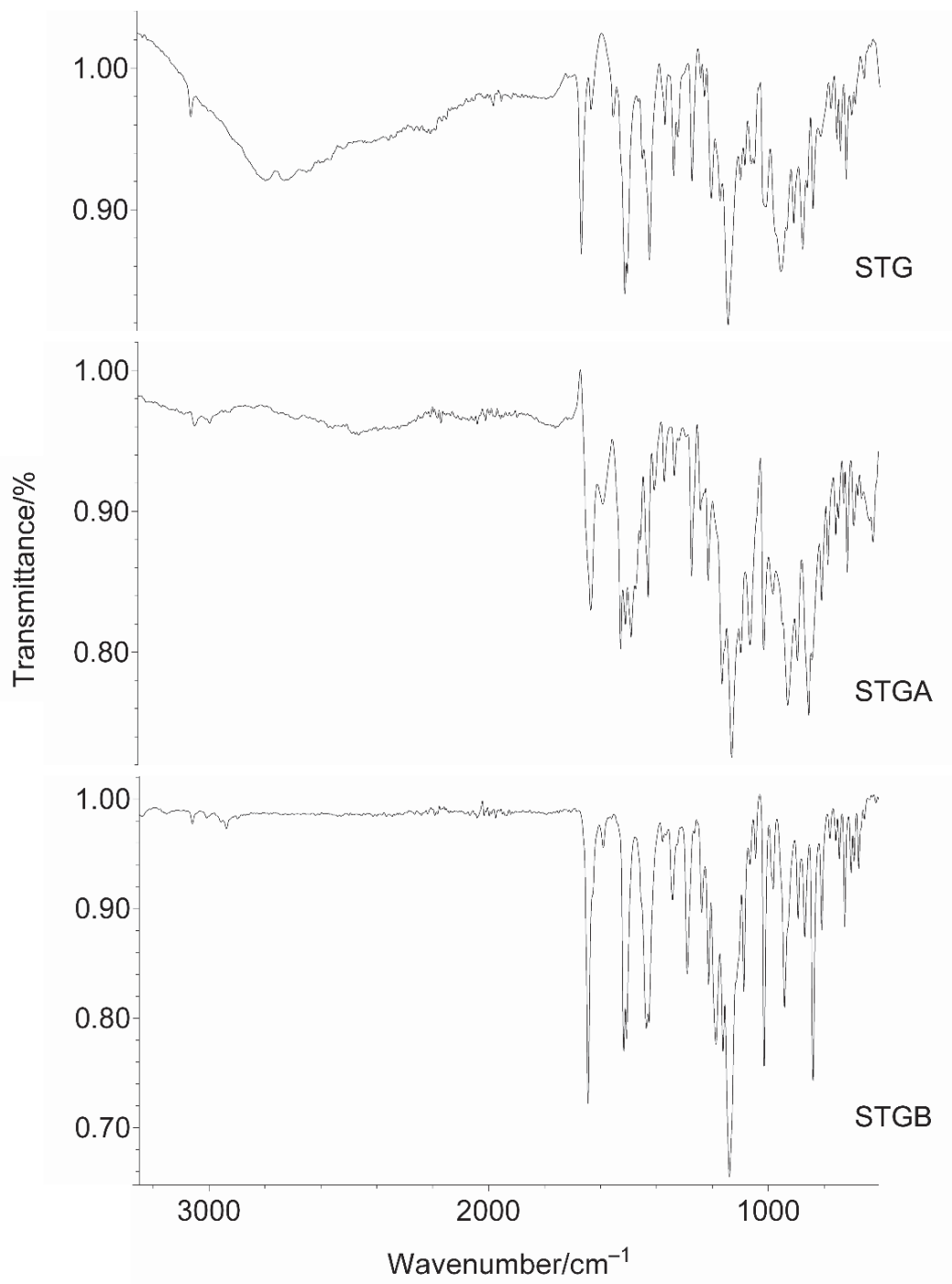


Figura 11. Comparativo dos espectros de FTIR das amostras de fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e forma base sitagliptina (STGB).

3.6 ESPECTROSCOPIA DE RAMAN

A espectrometria de Raman é uma técnica fotônica baseada no princípio da dispersão, onde a emissão de radiação de um laser monocromático na amostra causa vibrações na molécula, a partir da colisão inelástica do incidente radiação monocromática (laser) e as moléculas presentes na amostra é gerado o espectro Raman (OLIVEIRA et al., 2018).

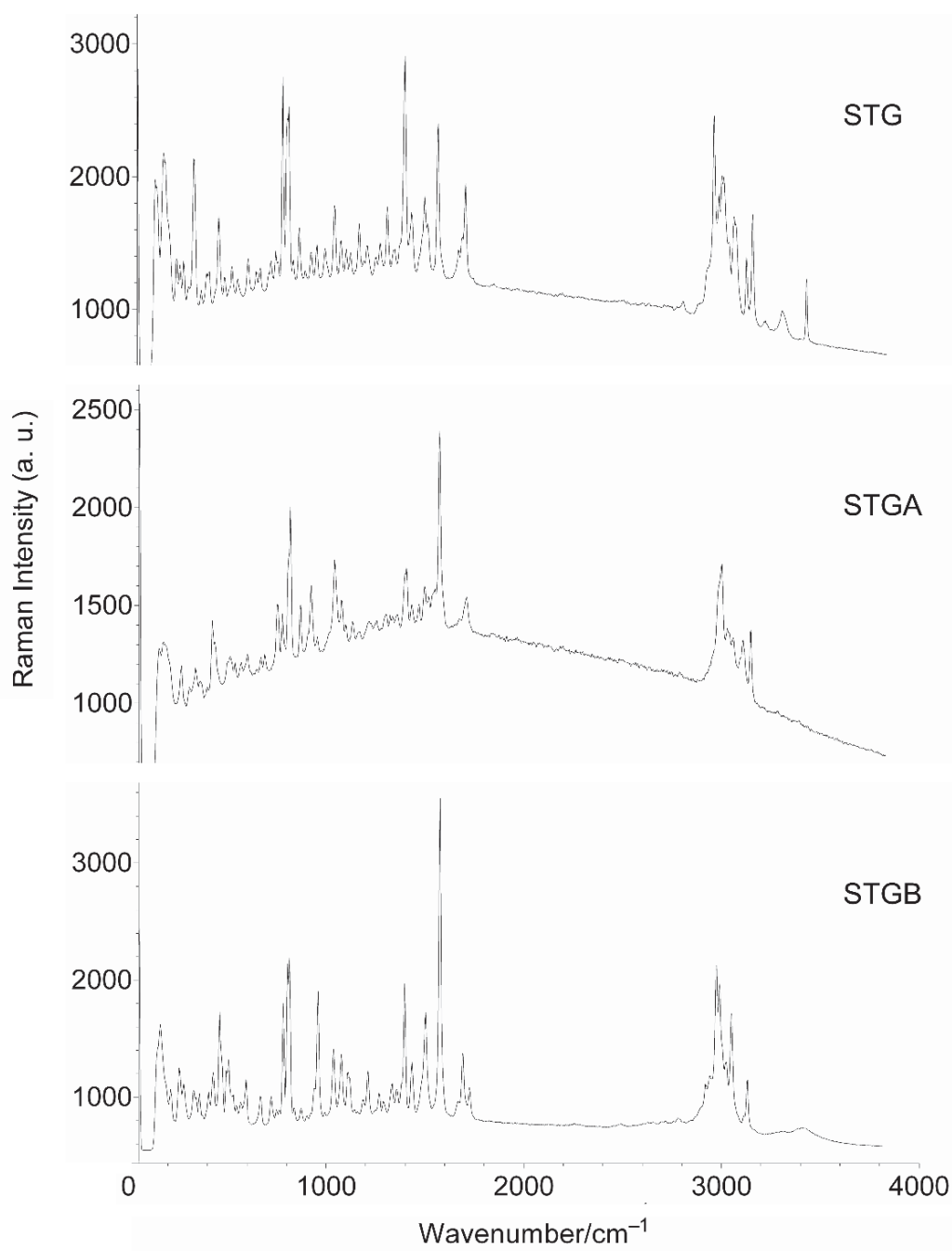


Figura 12. Comparativo dos espectros de RAMAN das amostras de fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e forma base sitagliptina (STGB).

A espectroscopia de Raman foi realizada nas amostras de STG, STGA, STGB e são apresentados na Figura 12. Assim, dentre os grupos que caracterizam a sitagliptina estão as vibrações de estiramento C-H em 2950 cm^{-1} , o estiramento C-C em $1515\text{-}1525\text{ cm}^{-1}$, as vibrações de estiramento C=O em 1650 cm^{-1} , o estiramento C-N em 1345 cm^{-1} , as vibrações de estiramento N-H em $3077\text{-}3090\text{ cm}^{-1}$ e as vibrações referente ao grupamento CF_3 em $1025\text{-}1060\text{ cm}^{-1}$ (RAJESH; GUNASEKARAN; RAJESH, 2018).

As vibrações de estiramento de O-H em 3360 cm^{-1} , presente apenas na STG são referentes a molécula de água, e as vibrações de estiramento da ligação P-O em 815 cm^{-1} , estão presentes apenas nas moléculas de STG e STGA, devido a presença do grupamento fosfato, evidenciando a desfosfatação da molécula em STGB.

3.7 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (DRXP)

A difração de um feixe de raios X por um material cristalino, ocorre pela incidência de um feixe de raios X em direção a um material com estrutura atômica uniforme, causada pelo processo de interferência construtiva. A técnica de difração de raios-X em pó foi utilizada para fins qualitativos para a identificação da cristalinidade (CULLITY; STOCK, 2013).

Os difratogramas da STG, STGA e STGB são mostrados na Figura 13. De acordo com o difratograma, o DRXP da STG mostra que o material é cristalino, apresentando picos característicos em $13,2^\circ$, $13,8^\circ$, $15,9^\circ$, $18,4^\circ$, $19,1^\circ$, $21,2^\circ$, $24,0^\circ$, $25,0^\circ$, $25,7^\circ$, $29,5^\circ$, $30,9^\circ \pm 0,2^\circ$. A STGA também apresenta caráter cristalino, sendo os principais picos característicos em $4,6^\circ$, $9,3^\circ$, $13,4^\circ$, $13,9^\circ$, $15,0^\circ$, $18,2^\circ$, $19,2^\circ$, $19,9^\circ$, $21,4^\circ$, $25,4^\circ$ e $26,9^\circ \pm 0,2^\circ$. Dwivedi e colaboradores (2015), apresentaram padrões de difração de raios-x em pó similares tanto para o fosfato de sitagliptina monoidratada (STG) quanto para o fosfato de sitagliptina anidra (STGA).

A forma base sitagliptina (STGB) possui cristalinidade natural e apresentou picos semelhantes ao descrito por Perlman (2009), sendo eles: $7,4^\circ$, $11,5^\circ$, $16,7^\circ$, $17,7^\circ$, $18,9^\circ$, $24,1^\circ$, $24,5^\circ$, $27,0^\circ$, $28,5^\circ$ e $28,8^\circ \pm 0,2^\circ$.

Comparativamente, a STGA teve a cristalinidade reduzida, após a desidratação da STG, que por sua vez, deixou a molécula discretamente mais estável, como foi observado na análise cinética, além da molécula anidra possuir uma maior solubilidade em comparação a STG.

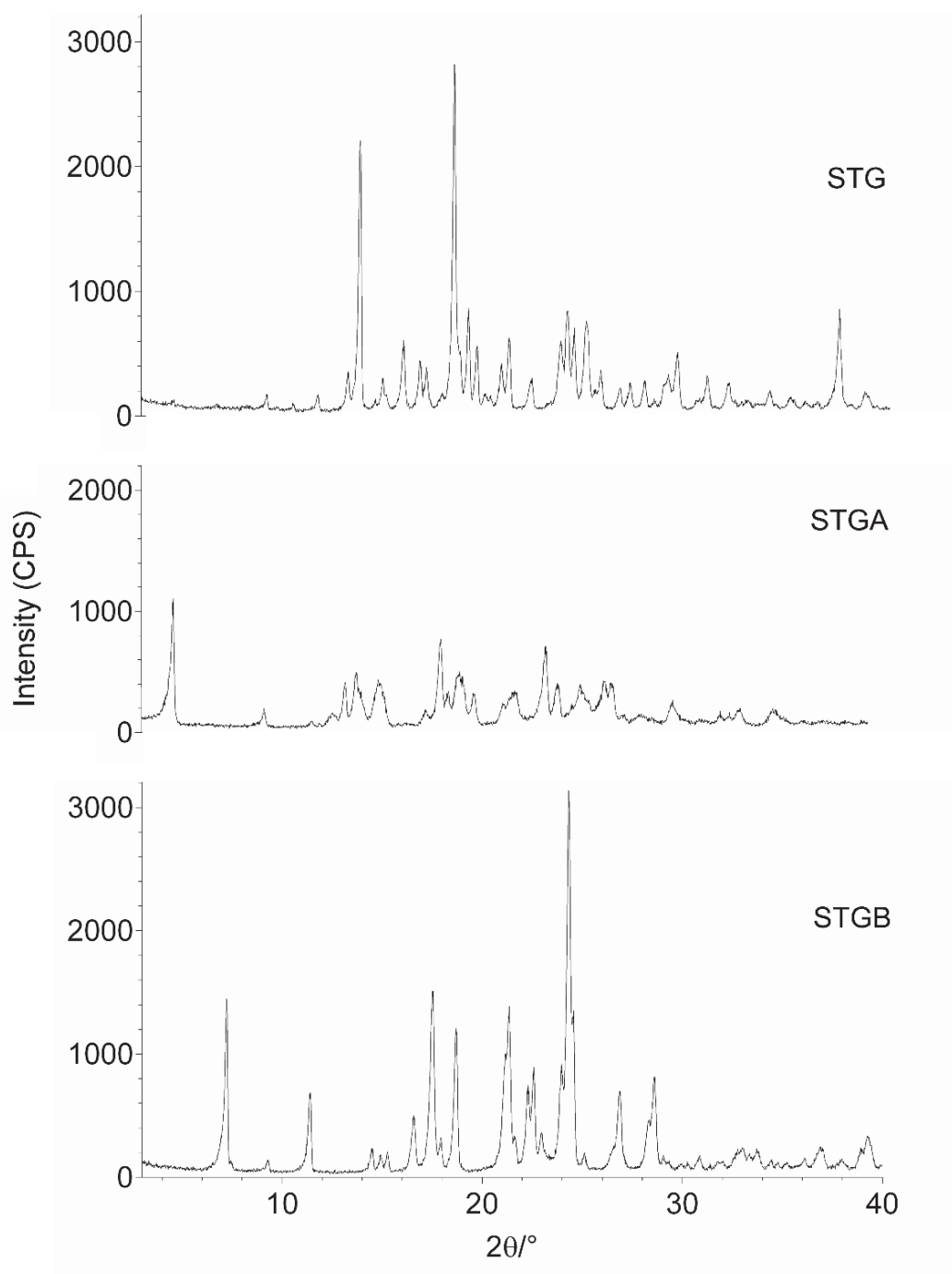


Figura 13. Difração de raios-X em pó (DRX) de fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e forma base sitagliptina (STGB).

Em relação a sitagliptina forma base (STGB) comparativamente as outras moléculas, a STGB possui maior cristalinidade, contudo, possui menor estabilidade térmica, como visualizado na análise térmica, e menor solubilidade. Uma vez que, um solvato é dissolvido na água, os íons livres interagem com as moléculas de água polar, de forma que essas interações proporcionam aos sais farmacêuticos uma maior solubilidade do que sua forma livre (MANTRI; SANGHVI; ZHU, 2016).

Uma vez que a solubilidade está diretamente associada com biodisponibilidade do fármaco, a solubilidade aquosa de um fármaco é uma propriedade fundamental para na absorção do fármaco após a administração oral, logo, uma baixa solubilidade causa uma biodisponibilidade oral limitada (KHADKA et al., 2014; SAVJANI; GAJJAR; SAVJANI, 2012). Desta forma, a STGA seria a forma mais adequada para utilização farmacêutica, entretanto devido a rota sintética da STG gerar a molécula solvatada e hidratada (DWIVEDI et al., 2015), a desidratação da molécula seria um processo dispendioso considerando a diferença discreta entre STG e STGA, sendo assim, a forma mais adequada para utilização farmacêutica se torna a STG.

3.8 MICROSCOPIA ELETRÔNICA DE VARREDURA (MEV)

A análise de microscopia eletrônica de varredura fornece informações sobre morfologia e o tamanho de cristais, sendo que a forma dos cristais influencia diretamente nas suas características físicas, podendo influenciar em operações farmacêuticas e propriedades mecânica como a processabilidade (moagem, mistura, fluxo do pó, compressão, dissolução e liofilização) (PRADO; ROCHA, 2015).

As características físicas do STG, STGA e STGB são mostrados em fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV), na Figura 14.

O fosfato de sitagliptina monidratado apresentado na Figura 14 A1/A2, pode ser classificado como um sistema cristalino ortorrômbico. Segundo Kaduk et al. (2015) a estrutura cristalográfica do STG sugerida é a forma de cristais achatados e finos (*platy form*).

Em relação ao fosfato de sitagliptina anidra as fotomicrografias são observadas na Figura 14 B1/B2, mostrando que o processo de desidratação não alterou a característica morfológica da STG. Na fotomicrografia mostrada na Figura

14 C1/C2, mostra que sitagliptina forma base teve o tamanho reduzido em 10 vezes após o processo de desfosfatação, porém manteve a mesma forma cristalina.

Entretanto os resultados obtidos a partir das análises de DSC, DRXP e MEV revelaram que tanto a remoção de água quando a remoção do fosfato da rede cristalina levou a mudanças na estrutura interna, o que produziu alteração nas características físico-química da molécula de STG.

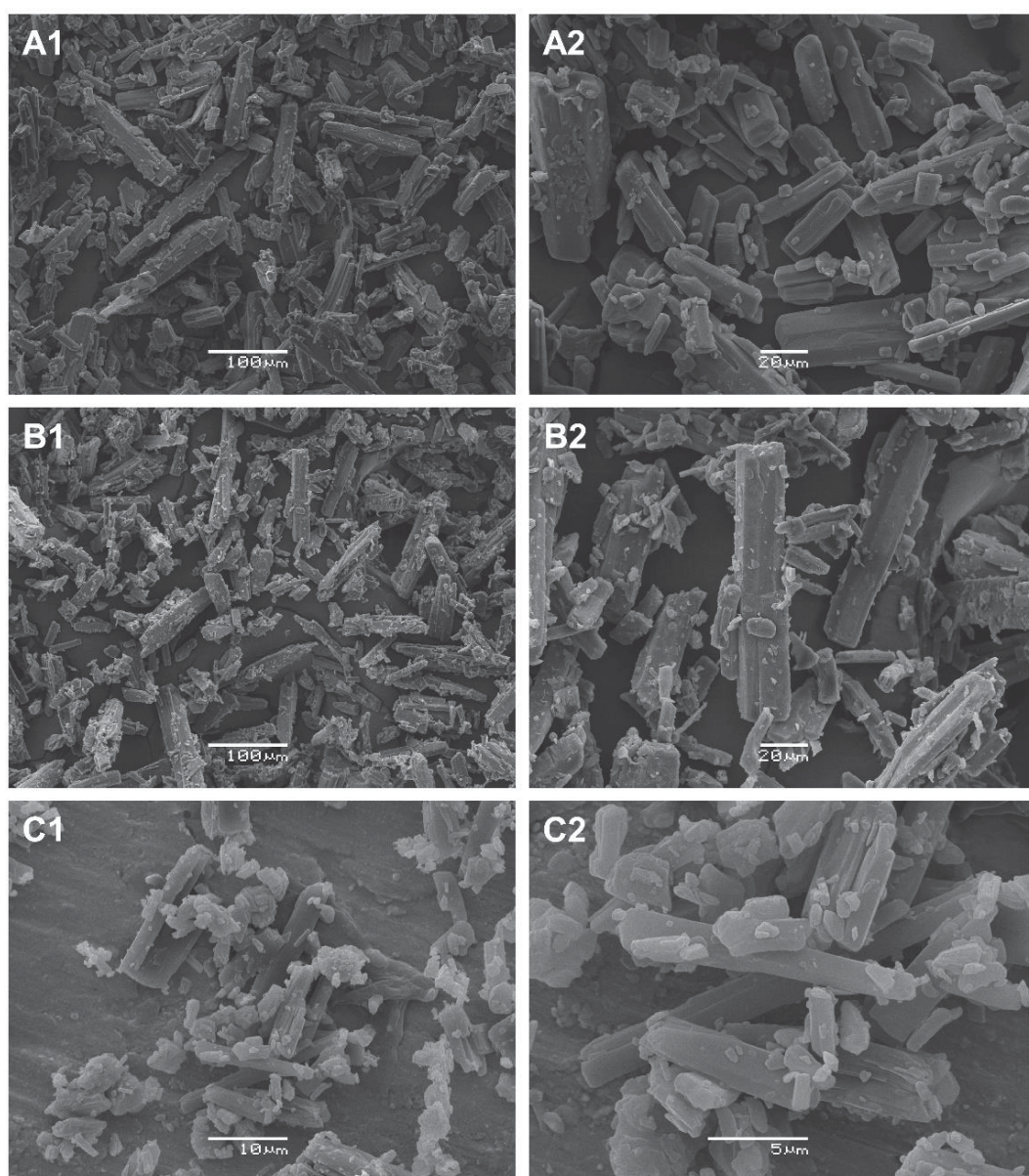


Figura 14. Fotomicrografias obtidas por microscopia eletrônica de varredura (MEV): STG (A1 200× e A2 600×), STGA (B1 200× e B2 600×) e STGB (C1 2000× e C2 5000×).

4. CONCLUSÃO

O fosfato de sitagliptina monoidratada possui solvatos e hidratos, que presentes na molécula influenciam nas propriedades físico-químicas do cristal, pois devido a capacidade de participarem na ligação de hidrogênio, são capazes de formar novas ligações entre moléculas de fármaco para formar novas estruturas de cristal. Levando esse fenômeno em consideração, foram realizadas caracterizações físico-químicas no estado sólido do fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), do fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e da forma base de sitagliptina (STGB) utilizando técnicas como DSC, TG, FTIR, RAMAN, DRXP e MEV.

Através da técnica termoanalíticas observou-se que após a desidratação da STG, ocorreu um evento característico de transição cristalina, alterando as características físico-químicas da amostra como ponto de fusão do composto e solubilidade. A desidratação da molécula de STG foi confirmada pela análise de TG-MS, onde observou-se a liberação de água em 117 °C. Já na STGB observou-se que na forma base apresenta um comportamento diferente da forma fosfatada e monoidratada, sendo a principal diferença observada através do evento de fusão, onde na forma base possui um ponto de fusão muito inferior.

Na análise de pureza por DSC para STG, STGA e STGB foram observados eventos de fusão, com picos endotérmicos definidos e simétricos. Isto indica que o processo de desidratação e desfosfatação do fármaco não modificou as características de pureza. Em relação à termoestabilidade, a STG e STGA apresentaram discreta diferença, entretanto apresentaram maior energia de ativação em relação a STGB, sendo desta forma, mais termoestáveis no que se refere a molécula desfosfatada.

Para corroborar a caracterização das amostras foram realizadas técnicas de espectroscopia como FTIR, Raman e DRXP. Por intermédio do DRXP notou-se que a forma base, comparativamente as outras moléculas, apresentam maior cristalinidade, todavia a estrutura cristalina da forma base de sitagliptina é menos estável e com menor solubilidade. Além disso, usando a análise de microscopia eletrônica de varredura foi possível descrever a morfologia das amostras.

Durante a fase de pré-formulação no desenvolvimento de novos medicamentos, é essencial considerar a influência de solvatos e hidratos na molécula, avaliando a estabilidade físico-química e solubilidade. Desta forma, o fosfato de

sitagliptina monoidratado (STG) é a estrutura cristalina mais adequada para o desenvolvimento de formas farmacêuticas seguras, eficazes e com qualidade, além de biodisponibilidade adequada.

5. REFERÊNCIAS

- BEASLEY, M. M. et al. Comparison of transmission FTIR , ATR , and DRIFT spectra : implications for assessment of bone bioapatite diagenesis. **Journal of Archaeological Science**, v. 46, p. 16–22, 2014.
- BERGER, J. P. et al. A comparative study of the binding properties , dipeptidyl lowering efficacy of the DPP- - saxagliptin , sitagliptin and vildagliptin in mice. **endocrinology, Diabetes & Metabolismndocrinology, Diabetes & Metabolism**, n. September 2017, p. 1–8, 2018.
- BERTOL, C. D. et al. Physicochemical characterization of dipeptidyl peptidase-4 inhibitor alogliptin in physical mixtures with excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 130, n. 3, p. 1575–1584, 2017.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. v. 1
- BRITTAIN, H. G. Mid-Infrared Spectroscopy of Pharmaceutical Solids. In: **Profiles of Drug Substances, Excipients and Related Methodology**. 1. ed. [s.l.] Elsevier Inc., 2018. v. 43p. 321–358.
- CAI, J.; LIU, R.; HUANG, C. Kinetic analysis of nonisothermal solid-state reactions: Determination of the kinetic parameters by means of a nonlinear regression method. **Journal of Mathematical Chemistry**, v. 44, n. 2, p. 551–558, 2008.
- CULLITY, B. D.; STOCK, S. R. **Elements of X-Ray Diffraction: Pearson New International Edition**. [s.l.] Pearson Education Limited, 2013.
- DATTA, S.; GRANT, D. J. W. **Crystal structures of drugs: Advances in determination, prediction and engineering**Nature Reviews Drug Discovery, 2004.
- DOGGRELL, S. A.; DIMMITT, S. B. Sitagliptin and other ‘gliptins’– why prescribe them? **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 17, n. 6, p. 757–760, 2016.
- DWIVEDI, S. D. et al. **Process for the Preparation of Sitagliptn Phosphate**United States, 2015.
- FLYNN, J. H.; WALL, L. A. General treatment of the thermogravimetry of polymers. **Journal of Research of the National Bureau of Standards Section A: Physics and Chemistry**, v. 70A, n. 6, p. 487, 1966.
- FROST, R. L. et al. Vibrational spectroscopic characterization of the phosphate mineral hureaulite-(Mn, Fe)5(PO4)2(HPO4)2·4(H2O). **Vibrational Spectroscopy**, v. 66, p. 69–75, 2013.
- GIRON, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, n. 2, p. 335–357, 2002.
- GREEN, J. B. et al. Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2

Diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 3, p. 232–242, 2015.

HSIEH, W. HSIEN et al. Non-isothermal dehydration kinetic study of aspartame hemihydrate using DSC, TGA and DSC-FTIR microspectroscopy. **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 13, n. 3, p. 212–219, 2018.

KADUK, J. A. et al. **Crystal structure of sitagliptin dihydrogen phosphate monohydrate, C₁₆H₁₆F₆N₅O(H₂PO₄)(H₂O)**. Powder Diffraction. **Anais...**2015

KARKHANIS, V. V. **Development and validation of analytical methods for some antidiabetic drugs**. India: Sardar Patel University, 2013.

KHADKA, P. et al. **Pharmaceutical particle technologies: An approach to improve drug solubility, dissolution and bioavailability** **Asian Journal of Pharmaceutical Sciences** Elsevier Ltd, , 2014. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1016/j.ajps.2014.05.005>>

MANTRI, R. V.; SANGHVI, R.; ZHU, H. J. Solubility of Pharmaceutical Solids. In: QIU, Y. et al. (Eds.). **Developing Solid Oral Dosage Forms**. Second edition. [s.l.] Academic Press, 2016. p. 3.

MAXIMIANO, F. P.; COSTA, G. H. Y.; SOUZA, J. DE. Physicochemical characterization of antichagasic benzimidazole. **Quím Nova**, v. 33, n. 8, p. 1714–1719, 2010.

MOHAMED, M. A. et al. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In: **Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization**. [s.l.] Elsevier B.V., 2017. v. 2p. 73–93.

MURAKAMI, F. S. et al. Physico-chemical solid-state characterization of omeprazole sodium: Thermal, spectroscopic and crystallinity studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 1, p. 72–80, 2009a.

MURAKAMI, F. S. et al. Comparative behavior studies of cinnamic acid using isothermal and nonisothermal kinetic methods. **Pharmaceutical Chemistry Journal**, v. 43, n. 12, p. 716–720, 2009b.

OLIVEIRA, L. J. et al. Physical–chemical characterization studies of ketoprofen for orodispersible tablets. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 133, n. 3, p. 1521–1533, 2018.

OZAWA, T. A New Method of Analyzing Thermogravimetric Data. **Bulletin of the Chemical Society of Japan**, v. 38, n. 11, p. 1881–1886, 1965.

PERLMAN, N. et al. **Crystalline Form of Sitagliptin** United States, 2009.

PRADO, L. D.; ROCHA, H. V. A. Estado sólido na indústria farmacêutica: Uma breve revisão. **Revista Virtual de Química**, v. 7, n. 6, p. 2080–2112, 2015.

RAJESH, S.; GUNASEKARAN, S.; RAJESH, P. HOMO-LUMO, NBO and Vibrational analysis of Sitagliptin by using DFT calculations and Experimental Study (FT-IR, FT-Raman and UV-Visible Spectroscopies). **International Journal of ChemTech**

Research, v. 11, n. 07, p. 107–122, 2018.

REMM, F. et al. Sitagliptin Accelerates Endothelial Regeneration after Vascular Injury Independent from GLP1 Receptor Signaling. **Stem Cells International**, v. 2018, p. 12–15, 2018.

SAVJANI, K. T.; GAJJAR, A. K.; SAVJANI, J. K. Drug Solubility: Importance and Enhancement Techniques. **ISRN Pharmaceuticals**, v. 2012, n. 100, p. 1–10, 2012.

SIRIGIRI, N. Stability indicating method development and validation for simultaneous estimation of sitagliptin phosphate and metformin HCl in tablets by HPLC. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, v. 9, n. 10, 2018.

TIEGER, E. et al. Crystallisation of a salt hydrate with a complex solid form landscape. **CrystEngComm**, v. 19, n. 14, p. 1912–1925, 2017.

VEIGA, A. et al. Solid-state compatibility studies of a drug without melting point: The case of omeprazole sodium. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, n. 3, p. 3201–3209, 2018.

VISHNUVARDHAN, C. et al. Liquid chromatography/electrospray ionisation tandem mass spectrometric study of sitagliptin and its stressed degradation products. **Drug Research**, v. 64, n. 12, p. 668–674, 2014.

WAGH, M. P.; PATWARDHAN, D. M.; PATIL, R. R. FORMULATION DEVELOPMENT AND EVALUATION OF SITAGLIPTIN PHOSHPHATE. **European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 10, p. 500–513, 2017.

CAPÍTULO II

DESENVOLVIMENTO DE COMPRIMIDOS ORODISPERSÍVEIS CONTENDO SITAGLIPTINA E VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA PARA ENSAIO DE DISSOLUÇÃO

RESUMO

Uma das grandes vantagens do desenvolvimento de comprimidos orodispersíveis contendo sitagliptina (STG) é facilitar administração a pacientes com dificuldades de deglutição. Para o desenvolvimento racional de um medicamento é importante primeiramente realizar estudos de compatibilidade com excipientes, para garantir uma forma farmacêutica com alta qualidade. Portanto, estudos de compatibilidade foram realizados por calorimetria exploratória diferencial (DSC) e técnicas de espectroscopia (FTIR e DRX). Posteriormente, foram desenvolvidas duas formulações de comprimidos orodispersíveis contendo sitagliptina com variação dos superdesintegrantes, sendo a F1 com croscarmellose e a F2 com crospovidona, e então os testes físico-químicos foram realizados conforme preconizados pela farmacopeia. O estudo de compatibilidade apresentou um deslocamento do ponto de fusão do fármaco para uma temperatura inferior em relação ao estearato de magnésio e sucralose, no entanto não foi demonstrado uma incompatibilidade entre eles. Foram realizadas análises utilizando técnicas espectroscópicas de FTIR e DRX que demonstrou que não houve alteração nas propriedades físico-químicas do STG pura, possibilitando a produção dos comprimidos orodispersíveis. Após as análises físico-químicas, observou-se que a formulação contendo o superdesintegrante crospovidona (F2) apresentou um tempo de desintegração inferior e uma maior eficiência de dissolução em relação a formulação contendo croscarmellose (F1).

Palavras-chaves: Sitagliptina, compatibilidade, comprimidos orodispersíveis, validação, eficiência de dissolução.

1. INTRODUÇÃO

O Diabetes *mellitus* (DM) é uma doença metabólica caracterizada pela desequilíbrio do metabolismo da glicose. Em 2017, o número de adultos com DM aumentou para 425 milhões na população mundial e é projetada para ser a superior a 629 milhões em 2045 (AMERICAN DIABETES ASSOCIATION, 2014; INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION, 2017).

A categoria mais prevalente, o diabetes *mellitus* tipo 2 (DM2), é caracterizado pela perda progressiva da função das células β -pancreáticas e resistência à insulina. Os inibidores da dipeptidil peptidase-4 (DPP-4) representam uma classe de agentes hipoglicêmicos que podem melhorar o controle glicêmico com baixo risco de hipoglicemia (CAI et al., 2016).

A sitagliptina é um inibidor da DPP-4 indicado como adjuvante à dieta e ao exercício para melhorar o controle glicêmico em adultos com DM2. A terapia combinada usando sitagliptina com outros agentes antidiabéticos inibidores não-DPP-4 fornece controle glicêmico significativamente melhor do que a monoterapia com qualquer um desses agentes sozinhos (ALSALIM et al., 2017).

Devido ao Diabetes *mellitus* (DM) ser uma importante doença que rapidamente se tornou grande preocupação de saúde pública em todo o mundo, o desenvolvimento de comprimidos orodispersíveis (ODT) será uma opção atraente, porque pode ser tomado a qualquer hora e em qualquer lugar. Assim, comprimido orodispersível (ODT) evoluiu de uma formulação especial para pacientes com dificuldade de deglutição para uma formulação de valor agregado que é esperado para melhorar a adesão à medicação, como em pessoas com doenças relacionadas com o estilo de vida ou síndromes metabólicas, tais como, diabetes, hiperlipidemia e hipertensão (NAKANO et al., 2013).

Os comprimidos orodispersíveis são formas de dosagem sólidas que são colocadas na cavidade oral e rapidamente se desintegram e dissolvem em contato com a saliva sem a necessidade de água. Os ODT, também conhecidos vulgarmente como fusão rápida, comprimidos de desintegração oral, e sistemas orodispersíveis, têm a propriedade de se desintegrarem na boca em segundos. ODT fornecem uma solução prática para uma ampla gama de pessoas que têm dificuldade em engolir (disfasia), incluindo pacientes pediátricos e geriátricos, bem como pacientes hospitalizados ou acamados (MOQBEL; ELMESHAD; EL-NABARAWI, 2017b).

Além de melhorar a adesão ao tratamento, os ODT foram investigados quanto ao seu potencial no aumento da biodisponibilidade de fármacos pouco solúveis em água, através do aumento do perfil de dissolução do fármaco e proporcionando um rápido início de ação (MOQBEL; ELMESHAD; EL-NABARAWI, 2017b).

Portanto, este capítulo tem por objetivo apresentar o desenvolvimento dos comprimidos orodispersíveis contendo sitagliptina pelo método de compressão direta, avaliando as variáveis durante o desenvolvimento farmacotécnico. Inicialmente foram realizados testes de compatibilidade fármaco-excipientes para verificar a interação entre eles. Após a produção dos comprimidos, foram realizados testes farmacopeicos, para avaliar a qualidade dos mesmos. Além de desenvolver e validar a metodologia de perfil de dissolução, foi avaliado o perfil de dissolução das distintas formulações desenvolvidas de comprimidos orodispersíveis, assim como, comparadas frente ao parâmetro da eficiência de dissolução (ED%).

2. METODOLOGIA

2.1 REAGENTES

Fosfato de sitagliptina monoidratada (Baoji Guokang Bio-Technology/Lote:20170904), celulose microcristalina 102 (Blanver), croscarmellose (Blanver), crospovidona (Blanver), amido pré-gelatinizado (Colorcon) estearato de magnésio (Pharmachemical), dióxido de silício coloidal (Evonik), sucralose (Fragon), flavorizante cacau em pó (Mãe-Terra), cloreto de sódio (Dinâmica), fosfato de potássio monobásico (Biotec), fosfato de sódio dibásico (Biotec), ácido fosfórico (Synth).

2.2 MATERIAIS E EQUIPAMENTOS

Calorímetro DSC-60 (Shimadzu), Difrátômetro de raio-x (Shimadzu), Tamises (Bertel), balança analítica AG200 (Gehaka), Medidor de pH Mpa – 210 (TecnoPON), espectrofotômetro UV-1800 (Shimadzu), desintegrador AJfino (Ética equipamentos), Durômetro 5Y (Dr. Schleuniger Pharmatron), friabilômetro 300.1 (Ética equipamentos), microscópio eletrônico de varredura JSM-6060LV (JEOL), dissolutor SRII 6-Flask Hanson research (Chatsworth-EUA).

2.3 DESENVOLVIMENTO DO COMPRIMIDO ORODISPERSÍVEL

Para o desenvolvimento dos comprimidos orodispersíveis, foram produzidos duas formulações contendo 64,25 mg de fosfato de sitagliptina monoidratado (equivalente a 50 mg) por método de compressão direta em compressora manual, em punção de 10 mm, conforme Tabela 1.

Tabela 1. Composição quantitativa dos componentes utilizados para preparação das formulações teste para técnica de compressão

Componentes	Formulações (%)		mg/comprimido
	F1	F2	
Sitagliptina	21,42	21,42	64,26
CMC 102	25,00	25,00	75,00
Amido	5,00	5,00	15,00
Croscarmellose	15,00	-	45,00
Crospovidona	-	15,00	
Dióxido de Silício	0,50	0,50	1,50
Estearato de Magnésio	0,50	0,50	1,50
Sucralose	17,50	17,50	52,50
Flavorizante	15,08	15,08	45,24
TOTAL	100	100	300,00

A fim de verificar a possibilidade de interação química ou física entre os componentes e garantir a qualidade do produto final com dosagens seguras e estáveis, foram realizados estudos de pré-formulação assim como estudo de compatibilidade fármaco-excipientes.

2.4 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE

2.4.1 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

O estudo de compatibilidade foi realizado utilizando misturas físicas do STG com excipientes em quantidades equimolares (1:1 p/p). As misturas físicas foram preparadas misturando suavemente em ágata com pistilo. A mistura binária foi mantida em frascos âmbar e submetido para análise de calorimetria exploratória diferencial em célula DSC-60 da Shimadzu®. Cada mistura foi analisada em cadinho de alumínio contendo aproximadamente 2,0 mg, sob atmosfera dinâmica de ar sintético (50 mL min⁻¹), razão de aquecimento de 10 °C min⁻¹ e com faixa de temperatura de 30-400 °C. O equipamento foi previamente calibrado com padrão de referência de índio e zinco.

2.4.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (DRXP)

Os padrões de difração de raios-X em pó foram determinados em difratômetro XRD-7000 da Shimadzu®, utilizando porta amostras de aço inoxidável de 20 mm, com radiação monocromática de Cu, voltagem 40.0 (kV), corrente de 20.0 (mA), ângulo de varredura Theta-2Theta e faixa de varredura 2.000 - 40.000.

2.4.3 ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

As análises de infravermelho (FTIR) foram realizadas em equipamento Bruker Alpha P, utilizando reflexão total atenuada (ATR) em comprimento de onda entre 3500 e 500 cm^{-1} , com resolução nominal de 4 cm^{-1} e acumulação de 32 scans.

2.5 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS COMPRIMIDOS

2.5.1 DOSEAMENTO

O doseamento do fármaco nos comprimidos foi realizado por Cromatografia à Líquido de Alta Eficiência em cromatógrafo Varian ProStar, utilizando método descrito na Farmacopeia americana (USP, 2016b).

2.5.1.1 REAGENTES

O método envolve o uso dos seguintes reagentes: Tampão (1,36 g/L de fosfato de potássio monobásico com pH ajustado para 2,0), ácido fosfórico diluído (1 mL de ácido fosfórico para 1L de água), diluente (acetonitrila e ácido fosfórico diluído 5:95), solução padrão (0,1 mg/mL de padrão fosfato de sitagliptina monoidratado em diluente), solução estoque (1,0 mg/mL, utilizando os 10 comprimidos orodispersíveis em diluente) e solução amostra (0,08 mg/mL de solução estoque em diluente).

2.5.1.2 PROCEDIMENTO

A separação cromatográfica da sitagliptina foi realizada em coluna de fase reversa C18 (4,6mm x 150mm; 5,0 μ m) com detector UV a 205 nm, com fluxo 1,0 mL/min, volume de injeção de 20 μ L, utilizando uma fase móvel constituída de acetronitrila e tampão fosfato potássico pH 2,0 (15:85, v/v).

A porcentagem de sitagliptina nos comprimidos é calculado, a partir da equação:

$$Teor = \left(\frac{r_a}{r_p} \right) \times \left(\frac{C_p}{C_a} \right) \times \left(\frac{M_{r1}}{M_{r2}} \right) \times 100$$

Onde r_a representa a área do pico da solução amostra, r_p corresponde a área do pico da solução amostra, C_a é a concentração da solução padrão (mg mL⁻¹), C_p é a concentração da solução amostra (mg mL⁻¹), M_{r1} é o peso molecular da sitagliptina (407,32) e M_{r2} é o peso molecular do fosfato de sitagliptina monoidratada (505,31).

2.5.2 UNIFORMIDADE DE DOSE UNITÁRIA

Para a uniformidade de dose unitária, utilizou-se a metodologia de uniformidade de conteúdo, considerando a forma farmacêutica, dose e proporção do fármaco. Então, foi analisado, individualmente, 10 comprimidos conforme metodologia de doseamento (BRASIL, 2010).

A partir das quantidades individuais estimada foi calculado o valor de aceitação (VA) segundo:

$$VA = |M - \bar{X}| + ks$$

Onde, M representa o valor de referência, \bar{X} é a média dos conteúdos individuais, k é a constante de aceitabilidade e s representa o desvio padrão da amostra.

2.5.3 DETERMINAÇÃO DE PESO

Para a determinação do peso médio foram utilizados 20 comprimidos de cada formulação, sendo que cada comprimido é pesado individualmente em balança analítica Gehaka modelo G200 e posteriormente determinado o peso médio (BRASIL, 2010).

2.5.4 DETERMINAÇÃO DE RESISTÊNCIA MECÂNICA

2.5.4.1 DUREZA

Para avaliar a dureza, utilizou-se 10 comprimidos de cada formulação eliminando qualquer resíduo superficial antes de cada determinação, os quais, foram submetidos, individualmente, a uma força radial medida em Newtons pelo durômetro Dr.Schleuniger Pharmatron-5Y (BRASIL, 2010).

2.5.4.2 FRIABILIDADE

A friabilidade dos comprimidos foi avaliada utilizando friabilômetro (Ética). Foram analisados 20 comprimidos orodispersíveis de cada formulação com velocidade de 25 rotações por minuto e o tempo de teste de 4 minutos.

2.5.5 DESINTEGRAÇÃO

Para análise de desintegração, foi utilizado desintegrador AJfino (Ética), no qual, 6 comprimidos de cada formulação foram colocados em diferentes tubos da cesta com disco, utilizando como líquido de imersão água à temperatura a 37 ± 1 °C. A desintegração de cada comprimido foi determinada com auxílio de cronômetro.

2.5.5.1 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA SALIVA SIMULADA E ESTUDO DE CAPTAÇÃO DE IMAGEM

A avaliação da influência da saliva simulada e a captação de imagem foram realizadas utilizando seis comprimidos de cada formulação (F1 e F2), colocados em placa de Petri e imersos em 20 mL de solução de saliva simulada pH 6,8 por um

período de 60 segundos. Ao decorrer dos intervalos de 5, 20 e 40 segundos, as imagens foram capturadas com auxílio de uma lupa microscópica (Tecnival®) acoplada à câmera, e digitalizadas através do software Image-proplus (MURAKAMI et al., 2008).

2.5.6 DISSOLUÇÃO

Os perfis de dissolução *in vitro* dos comprimidos foram determinados, em triplicata, em um aparelho de dissolução Hanson SR6, USA (modelo SRII 6-FLASK), utilizando-se as seguintes condições experimentais: aparato II (pás) sob agitação de 50 rpm, saliva simula pH 6,8 como meio de dissolução mantido à temperatura de 37 ± 1 °C. Foram coletadas 10 mL de amostra com seringas nos intervalos de 1, 2, 3, 4, 5, 7, 10, 15 e 20 min. As alíquotas de 5 mL foram filtradas em papel quantitativo, Ø 18 mm, e diluídas para 25 mL em balões volumétricos.

A porcentagem de liberação do fármaco, em relação ao tempo, foi quantificada por espectrofotometria à 205 nm, em espectrofotômetro UV-VIS (Shimadzu).

A eficiência de dissolução foi calculada a partir dos valores obtidos de área sob a curva do perfil de dissolução da sitagliptina em determinado intervalo de tempo. Portanto, a eficiência de dissolução foi determinada através da razão entre a área sob a curva de dissolução da sitagliptina no intervalo de tempo compreendido entre 0 e 10 minutos (CHATZIZAHARIA; HATZIAVRAMIDIS, 2015; SERRA; STORPIRTIS, 2007). Desta forma, a ED% pode ser definida:

$$ED = \frac{A_T}{A_R} \times 100$$

Onde, ED representa a eficiência de dissolução (%), A_T é a área sob a curva intervalo de tempo 0-10 min, A_R é a área total do retângulo sendo este, definido pela ordenada (100% de dissolução) e pela abcissa (tempo 10 minutos).

2.5.6.1 MEIO DE DISSOLUÇÃO

O meio de dissolução utilizado foi a saliva simulada pH 6,8, sendo a composição do meio de dissolução: 8,00 g/L de cloreto de sódio, 0,19 g/L de fosfato

de potássio monobásico e 2,38 g/L de fosfato de sódio dibásico em água purificada, e solução de ácido fosfórico para regular o pH.

2.5.6.2 SOLUÇÃO PADRÃO – 1000 µg mL⁻¹

A Solução Padrão foi obtida utilizando padrão secundário de fosfato de sitagliptina monoidratado (Baoji Guokang Bio-Tecnology/Lote:20170904), com teor declarado pelo fornecedor de 99.9 %.

O preparo da solução foi realizado em balão volumétrico de 50 mL, adicionando 64,25 mg de sitagliptina e completando o volume com o meio de dissolução.

2.5.6.3 VALIDAÇÃO DE METODOLOGIA ANALÍTICA

A metodologia analítica para o ensaio de dissolução foi desenvolvida e validada de acordo com o preconizado pelo procedimento de dissolução da farmacopeia américa, além dos parâmetros exigidos pelo ICH e pela RDC nº166. Sendo avaliado os seguintes parâmetros: especificidade, linearidade, limite de quantificação, limite de detecção, precisão, exatidão e robustez (BRASIL, 2017a; ICH, 2005; USP, 2016a).

2.5.6.3.1 ESPECIFICIDADE

O parâmetro de especificidade foi analisado através da varredura da solução de excipientes (amido pré-gelatinizado, celulose microcristalina, croscarmelose, crospovidona, dióxido de sílcio coloidal, estearato de magnésio, sucralose e flavorizante) e da solução padrão, em espectrofotômetro UV-vis, na faixa de 190 à 300 nm. Os resultados obtidos também foram comparados usando a fórmula:

$$R = \left(\frac{A_p}{A_s} \right) \times C_s \times \left(\frac{V}{P} \right) \times 100$$

Onde a A_p representa a absorbância do placebo, A_s é a absorbância do padrão, C_s é a concentração do padrão (mg mL⁻¹), V é o volume do meio (mL), P é o peso declarado do fármaco no comprimido (mg). A interferência não deve exceder 2% (USP, 2016a).

O ensaio foi realizado a partir da pesagem dos excipientes em quantidades proporcionais a um comprimido. Os excipientes e a solução padrão foram adicionados, cada um em uma cuba, contendo 1000 mL de meio de dissolução, e então submetidos a rotação de 50 rpm. As alíquotas foram retiradas após 5 minutos de ensaio, em seguida as leituras foram realizadas em espectrofotômetro UV-Vis à 205nm. O ensaio foi realizado em triplicata.

2.5.6.3.2 LINEARIDADE

A linearidade foi avaliada a partir da diluição da solução padrão nas concentrações de 2, 5, 7, 10, 12 e 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$, e posteriormente foram construídas três curvas com as diferentes concentrações. As concentrações preparadas compreendem a menor e a maior concentração que se presumia encontrar na liberação de sitagliptina durante o estudo de dissolução. Os resultados foram analisados por regressão linear, onde o coeficiente de correlação não pode ser inferior a $R^2 \geq 0,98$ (USP, 2016a).

2.5.6.3.3 LIMITES DE DETECÇÃO E QUANTIFICAÇÃO

Os limites de quantificação (LQ) e detecção (LD) foram determinados através da inclinação da reta e do desvio padrão dos interceptos das curvas obtidas na linearidade, conforme equações apresentadas:

$$LQ = \left(\frac{DP_b \times 10}{IC_a} \right)$$

$$LD = \left(\frac{DP_b \times 3}{IC_a} \right)$$

Onde, LQ representa os limites de quantificação, LD representa os limites detecção, IC_a é a inclinação da reta e DP_b é o desvio padrão (ICH, 2005).

2.5.6.3.4 PRECISÃO

A precisão do método analítico foi expressa por meio da precisão intermediária e da repetibilidade, a partir do ensaio de dissolução de seis comprimidos orodispersíveis, sendo a repetibilidade determinada pela análise das amostras sob as mesmas condições de operação, analista e instrumentação, enquanto a precisão intermediária foi realizada em dias diferente (interdias) e por dois analistas diferentes (entre analistas) nas mesmas condições experimentais da repetibilidade.

As alíquotas para análise foram retiradas após 5 minutos, levando em consideração a porcentagem de dissolução do > 85% do fármaco (USP, 2016a). As amostras foram filtradas e diluídas em meio de dissolução e em seguida foi realizada as leituras das absorbâncias em espectrofotômetro UV-vis à 205nm. O critério de aceitação é um desvio padrão relativo <2% (USP, 2016a).

2.5.6.3.5 EXATIDÃO

A exatidão foi determinada a partir de três determinações, em triplicata, contemplando o intervalo linear do método.

O ensaio foi realizado a partir da solução padrão com excipientes, de forma que representassem 80%, 100% e 120%, correspondendo dessa forma, as concentrações de 8 µg mL⁻¹, 10 µg mL⁻¹ e 12 µg mL⁻¹, respectivamente. O tempo para amostragem das alíquotas foi de 5 minutos, em seguida as amostras foram filtradas e diluídas em meio de dissolução e posteriormente realizado as leituras das absorbâncias em espectrofotômetro UV-vis à 205nm.

A exatidão foi expressa através das porcentagens de recuperação (R%) de acordo com a equação:

$$R\% = \left(\frac{C_{me}}{C_t} \right) \times 100$$

Onde R representa a recuperação (%), C_{me} é a concentração média experimental e C_t é a concentração teórica (BRASIL, 2017). Os resultados obtidos devem apresentar porcentagens de recuperação entre 95 e 105% em relação ao teor de sitagliptina dissolvida (USP, 2016a).

2.5.6.3.6 ROBUSTEZ

A avaliação da robustez foi determinada através de pequenas mudanças nas condições do experimento, sendo as condições de variações definidas em: variação do pH do meio de dissolução, variação no volume do meio, variação na agitação.

Cada condição experimental foi realizada em triplicata. A amostragem foi feita após de 5 minutos, em seguida as amostras foram filtradas e diluídas em meio de dissolução e posteriormente realizado as leituras das absorbâncias em espectrofotômetro UV-vis à 205nm.

A especificação para robustez é que a diferença no valor médio dos resultados de dissolução entre quaisquer das condições, não exceda 5% com > 85% de dissolução (USP, 2016a).

2.5.6.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão. As diferenças foram testadas pelo teste-T não pareado (*two-tailed*). Os valores $P < 0,05$ foram considerados estatisticamente significativos. A análise estatística foi feita usando o software estatístico.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 DESENVOLVIMENTO DOS COMPRIMIDOS ORODISPERSÍVEIS

O desenvolvimento de comprimidos orodispersíveis contendo sitagliptina foi baseada na alta prevalência de números de diabéticos, segundo dados da sociedade brasileira de diabetes. Devido a isso, a facilidade de ingerir o medicamento sem a necessidade de água, além da condição de liberação imediata do fármaco, torna o estudo inovador e tecnológico.

A seleção da técnica para obtenção de comprimidos orodispersíveis foi a técnica compressão direta, uma vez que esta é a que desperta maior interesse por parte das indústrias farmacêuticas, por ser mais rápida e simplificada, também, por oferecer maior estabilidade físico-química aos ingredientes ativos e para o produto acabado (KATAYAMA et al., 2018; VILLANOVA; ORÉFICE; CUNHA, 2010).

A escolha dos componentes das formulações foi realizada a fim de obter comprimidos com as características adequadas de tempo de desintegração, posteriormente foi realizado estudo de pré-formulação, como compatibilidade, visando verificar a compatibilidade ou interação fármaco-excipiente. As quantidades de cada componente foram estabelecidas e em seguida alguns testes experimentais como dureza e desintegração foram realizados, buscando formulações que resultassem em comprimidos orodispersíveis com qualidade.

Para a produção dos comprimidos orodispersíveis é necessária uma combinação de excipientes a fim de garantir a rápida desintegração. Assim, as formulações foram avaliadas quanto à diferentes superdesintegrantes tendo como objetivo, a comparação entre a croscarmelose e a crospovidona, assim como foram avaliadas visando a obtenção de formas farmacêuticas com menor tempo de desintegração.

Outra importante condição relevante no desenvolvimento de comprimido orodispersível (ODT) é o mascaramento do sabor amargo do ingrediente farmacêutico ativo (IFA), uma vez que o ingrediente ativo é dissolvido na cavidade oral, e pode causar desconforto para o paciente e afetar a aderência ao tratamento medicamentoso. Assim, é necessário mascarar o sabor amargo, tanto quanto possível, para que o paciente tenha aderência ao tratamento (KATAYAMA et al., 2018).

Desta forma, para contornar este inconveniente, edulcorantes e flavorizantes foram adicionadas as formulações com a finalidade de mascarar o sabor amargo do fármaco. Para tanto, foram utilizados associação de sucralose, como agente edulcorante, e cacau, como flavorizante.

A sucralose comumente utilizada como agente adoçante em formulações farmacêuticas, tem um poder adoçante de aproximadamente 300 a 1000 vezes maior que a sacarose e não tem sabor residual, além de não produz resposta glicêmica, pois não tem valor nutricional (ROWE; SHESKEY; QUINN, 2009).

Segundo estudos de Prista, Alves, Morgado (1979), a correção do amargor causado por medicamentos, é contornada utilizando preferencialmente cacau. Desta forma, o cacau foi escolhido como agente flavorizante, uma vez que o cacau além corrige o sabor amargo do medicamento, exercer efeitos benéficos no diabetes. Pois, possui epicatequina em sua composição, um dos principais flavonóides do cacau, que exerce atividades semelhantes à insulina, além de melhorar a sensibilidade à insulina, os níveis de glicose no sangue e os parâmetros relacionados à diabetes (CORDERO-HERRERA et al., 2013).

3.2 ESTUDO DE COMPATIBILIDADE

Levando em consideração que as interações fármaco-excipientes podem diminuir a estabilidade da formulação, assim como a incompatibilidade entre eles podem modificar a forma cristalina do fármaco, levando a alterações na solubilidade e biodisponibilidade, tendo como consequência o comprometimento da segurança e eficácia do medicamento, foi realizado o estudo de compatibilidade através da técnica de DSC, DRXP e FTIR (DE LIMA GOMES et al., 2018; OLIVEIRA et al., 2018; VEIGA et al., 2018).

3.2.1 CALORIMETRIA EXPLORATÓRIA DIFERENCIAL (DSC)

O estudo de compatibilidade entre o STG e os excipientes são observados nas curvas DSC comparativas, mostrados na Figura 1. Os dados termo-analíticos de STG e das misturas 1:1 p/p são apresentados na Tabela 2.

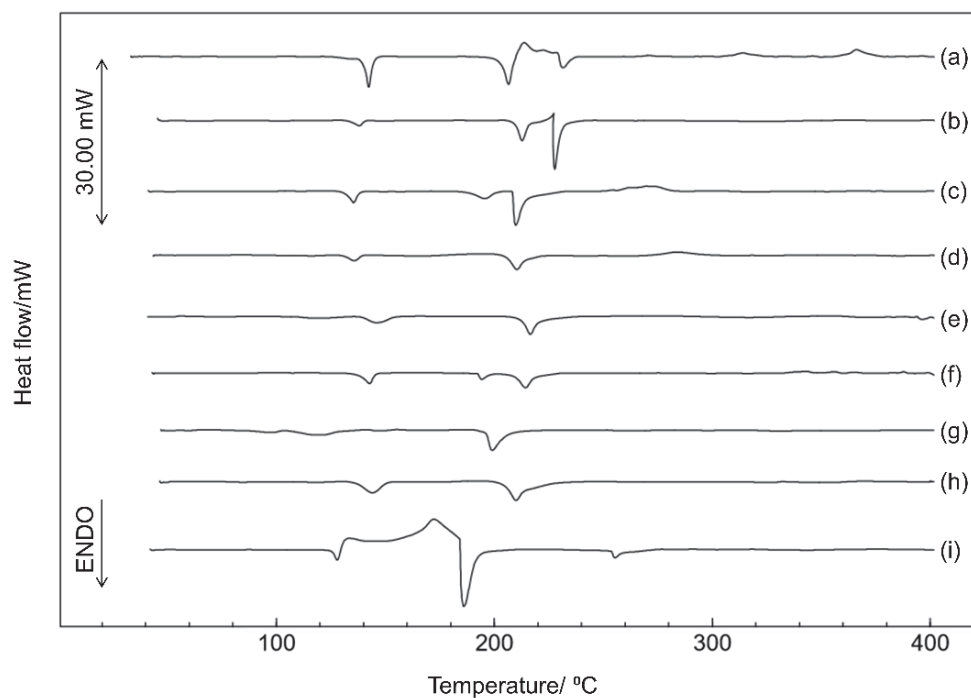


Figura 1. Curvas DSC de sitagliptina e mistura binárias fármaco-excipiente obtidas sob atmosfera de ar sintético de 50 mL min⁻¹ e razão de 10 °C min⁻¹

Tabela 2. Valores das curvas DSC mostrando os resultados de T_{peak} , T_{onset} , T_{endset} e entalpia (ΔH) da sitagliptina e misturas binárias fármaco-excipiente, correspondentes à formulação de comprimidos orodispersíveis.

	Fármaco/Excipiente	$T_{\text{peak}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{onset}} / ^\circ\text{C}$	$T_{\text{endset}} / ^\circ\text{C}$	$\Delta H / \text{J g}^{-1}$
(a)	STG	206,37	203,02	210,22	-104,97
(b)	STG + APG	212,66	209,88	215,96	-34,97
(c)	STG + CMC	209,87	208,41	214,50	-87,88
(d)	STG + CCS	210,19	205,93	213,87	-38,31
(e)	STG + CPVP	216,43	213,11	219,66	-28,70
(f)	STG + DXS	214,16	209,79	217,81	-35,86
(g)	STG + MAG	198,95	196,48	204,55	-41,24
(h)	STG + FLV	209,88	205,34	213,27	-42,78
(i)	STG + SCL	186,00	184,27	190,63	-158,63

A análise das curvas DSC entre o fármaco e excipientes, mostrou que o amido pré-gelatinizado (APG), celulose microcristalina (CMC), croscarmellose (CCS) crospovidona (CPVP), dióxido de silício coloidal (DXS) e o flavorizante – cacau (FLV) são compatíveis com a sitagliptina, uma vez que não interferiram no pico endotérmico de fusão da STG.

Em relação ao estearato de magnésio, quando comparado a STG, apresentou um deslocamento do pico de fusão ($T_{peak} = 198,95\text{ }^{\circ}\text{C}$) da STG para uma temperatura inferior. Fenômeno semelhante relacionado ao estearato de magnésio foi descrito por Oliveira et al. (2018) e Shantikumar et al. (2014).

De acordo com Oliveira 2018, isso se deve ao fato de que o estearato de magnésio possui diferentes pontos de fusão, uma vez que o composto apresenta em sua estrutura diversos ácidos graxos, como ácido esteárico e ácido palmítico. Esta composição afeta os valores de T_{peak} , T_{onset} e entalpia do fármaco nas misturas binárias, porém esta característica não é indicativa de incompatibilidade.

A sucralose deslocou o T_{peak} da sitagliptina, onde o ponto de fusão do composto em $125\text{ }^{\circ}\text{C}$ originou um adiantamento do pico de fusão do fármaco, causado pela característica da interação da mistura eutética, sendo este fato não considerado uma incompatibilidade.

3.2.2 DIFRAÇÃO DE RAIOS-X EM PÓ (DRXP)

A difração de raios X (DRX) por um material cristalino é formada pelo processo de interferência construtiva, resultante da interação entre os raios-X incidente e o a nuvens de elétrons dos átomos. A técnica de difração de raios-X em pó foi utilizada para fins de identificação da cristalinidade (BRASIL, 2017b; MURAKAMI et al., 2009a).

Os difratogramas de sitagliptina e da mistura entre a sitagliptina e todos os excipientes pode ser observado na Figura 2.

De acordo com o difratograma, o padrão de raios-X da sitagliptina caracteriza-o como um cristalino material com picos de difração característicos em $13,2^{\circ}$, $13,8^{\circ}$, $15,9^{\circ}$, $18,4^{\circ}$, $19,1^{\circ}$, $21,2^{\circ}$, $24,0^{\circ}$, $25,0^{\circ}$, $25,7^{\circ}$, $29,5^{\circ}$, $30,9^{\circ} \pm 0,2^{\circ}$. Dwivedi et al. (2015), descreveu padrões de difração de raios-x semelhantes a STG.

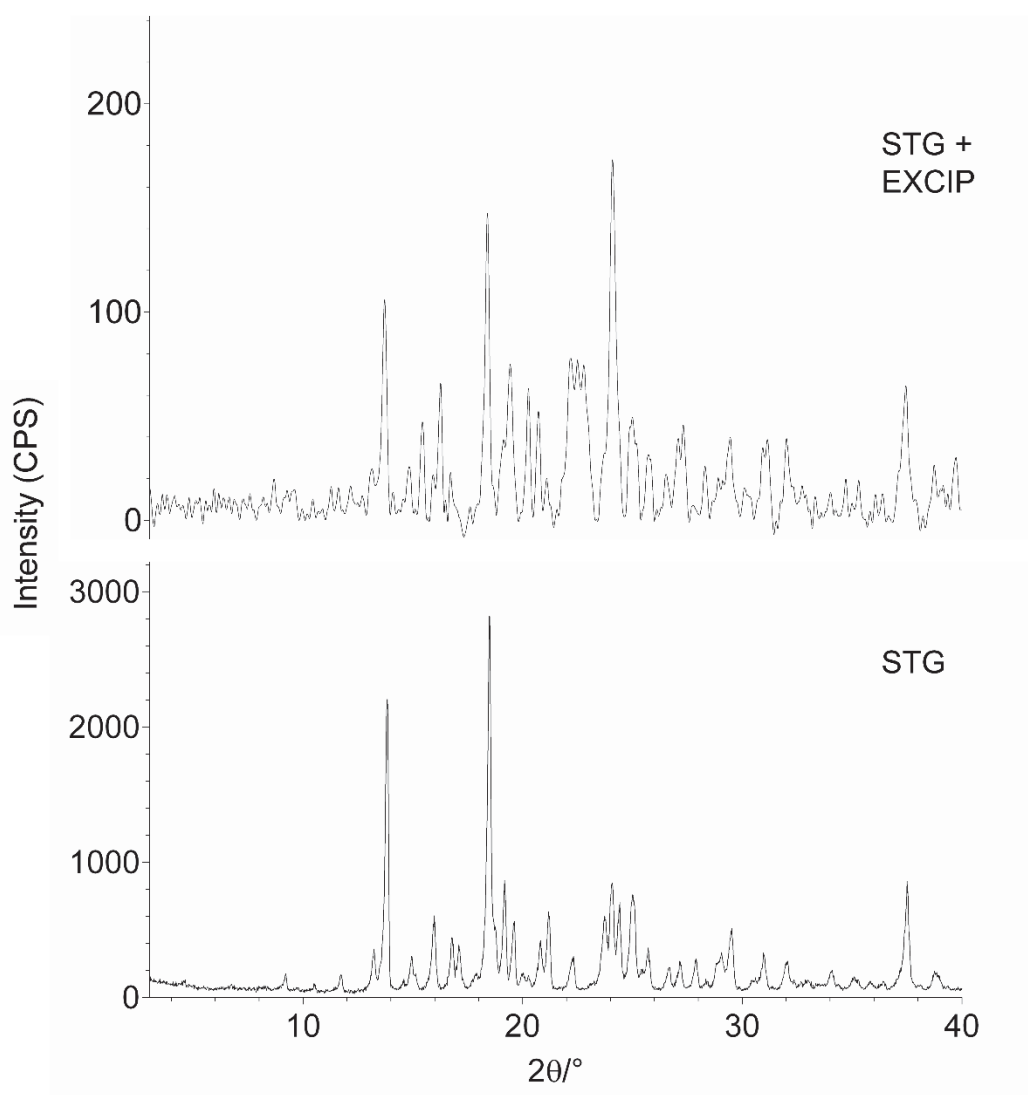


Figura 2. Difração de raios-X em pó (DRX) da STG pura e STG com excipientes.

A análise de XRD mostrou ausência de interações significativas, uma vez que a mistura de fármaco-excipientes apresenta picos correspondentes à molécula de sitagliptina pura. Observa-se uma menor intensidade de picos devido a mistura com todos os excipientes.

Assim, os resultados obtidos pelo DRX mostraram que os excipientes são inertes em relação à característica cristalina do fármaco, não apresentando interação no estado sólido.

3.2.3 A ESPECTROSCOPIA DE INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER POR REFLEXÃO TOTAL ATENUADA (ATR-FTIR)

A espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier por reflexão total atenuada (ATR-FTIR) é uma técnica com capacidade de identificar grupos funcionais específicos dos componentes estruturais que constituem diferentes formas farmacêutica, sendo desta forma, amplamente utilizada para estudar possíveis interações físico-químicas no estado sólido (KHAN et al., 2015).

Os espectros de obtidos da sitagliptina, e da mistura entre a sitagliptina e excipientes são demonstrados na Figura 3.

Após a aquisição dos espectros, estes foram comparados para identificar uma possível interação química entre eles. Observando os espectros de IR, verificou-se bandas relacionadas com os grupos funcionais que caracterizam a sitagliptina. Sendo, a banda em 1465 cm^{-1} característica de estiramento de alcanos (C-H), em $1680\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ a banda é referente a ligação C=O da carbonila, em $1690\text{-}1640\text{ cm}^{-1}$ refere-se ao grupo imina (C=N), a banda em $1350\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ é referente a vibração do fluoreto (C-F) e a banda $3200\text{-}3100\text{ cm}^{-1}$ está relacionado ao grupamento amina (NH_2) (MOHAMED et al., 2017; MOHANTY, 2018; WAGH; PATWARDHAN; PATIL, 2017).

Após a identificação das bandas de absorção que caracterizam a sitagliptina, foi realizado o estudo de compatibilidade. De acordo com os espectros obtidos, pode-se observar que os excipientes não modificaram as bandas características de absorção da estrutura do fármaco. Logo, a técnica FTIR corrobora para o estudo de compatibilidade entre o fármaco e o excipiente, comprovando que os excipientes não alteraram a estrutura físico-química do sitagliptina.

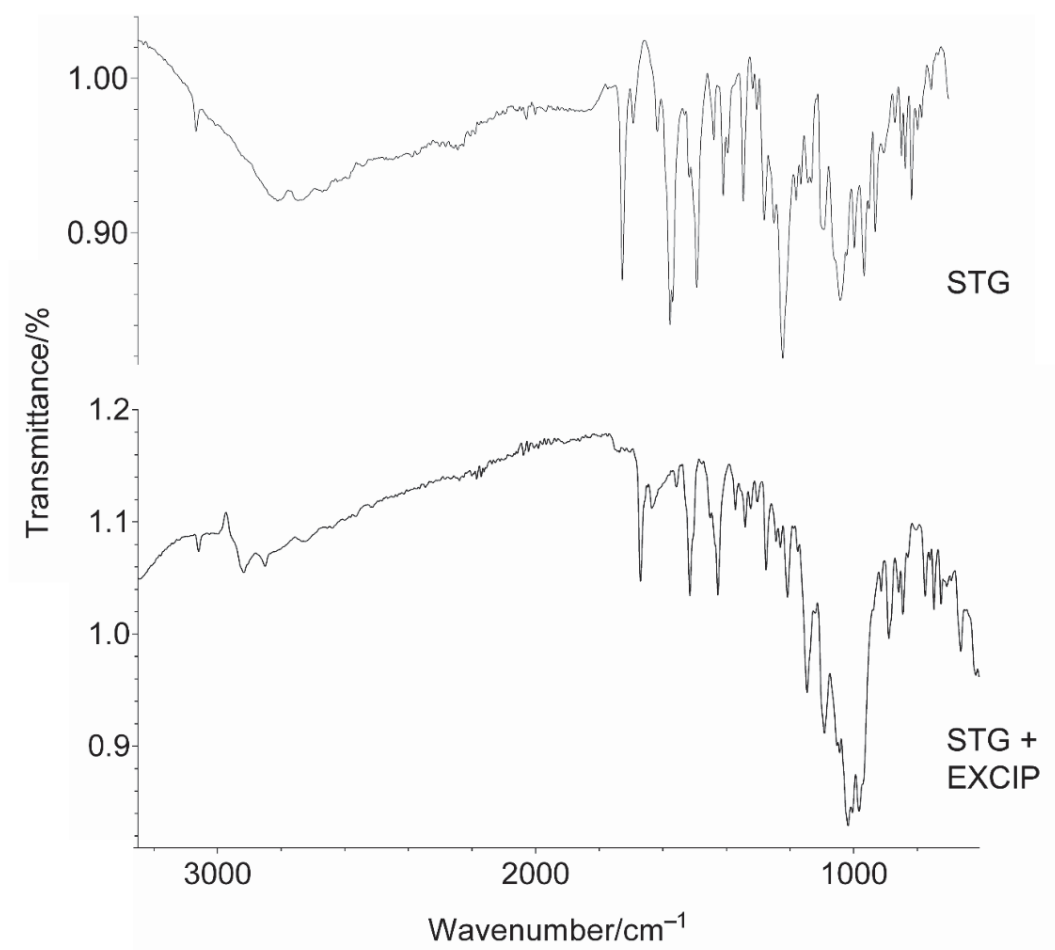


Figura 3. Espectroscopia de infravermelho com transformada de Fourier (FTIR) da STG pura e STG com excipientes.

3.3 CARACTERÍSTICAS FÍSICO-QUÍMICAS DOS COMPRIMIDOS

3.3.1 DOSEAMENTO

O doseamento é um teste que consiste na realização da análise que visa quantificar o teor de substância ativa em medicamentos (BRASIL, 2010).

Os resultados do doseamento dos comprimidos orodispersíveis são demonstrados Tabela 3.

Tabela 3. Resultados de doseamento para as formulações 1 e 2.

	Formulação 1	Formulação 2
	(n=10)	(n=10)
Doseamento (%)	99,20	100,25
Desvio Padrão	2,9755	1,4939
DPR %	2,9995	1,4901

Observando os resultados do doseamento dos comprimidos orodispersíveis, nota-se que a média do teor dos comprimidos, tanto a formulação 1 quanto da formulação 2, estão dentro de 95,0% - 105,0%, cumprindo, desta forma, a especificação.

3.3.2 UNIFORMIDADE DE DOSE UNITÁRIA

Para assegurar a administração de doses corretas, cada unidade do lote de um medicamento deve conter quantidade do componente ativo próxima da quantidade declarada. O teste de uniformidade de doses unitárias permite avaliar a quantidade de componente ativo em unidades individuais do lote e verificar se esta quantidade é uniforme nas unidades testadas (BRASIL, 2010).

A partir dos resultados do doseamento individuais de sitagliptina em cada unidade, foi calculado o valor de aceitação (VA). Os resultados são apresentados na Tabela 4.

A média dos conteúdos individuais (\bar{X}), de ambas formulações, ficaram entre 98,5% e 101,5%, desta forma, a farmacopeia brasileira preconiza que o valor de referência (M) igual a média dos conteúdos individuais ($M = \bar{X}$), consequentemente o valor de aceitação ($VA = ks$).

Uma vez que o número amostral utilizado foram 10 unidades, o valor de k estabelecido pela farmacopeia brasileira é 2,4. Desta forma os valores de aceitação para formulação 1 foi de 1,76, enquanto que para formulação 2 foi de 2,80.

Tabela 4. Resultados da uniformidade de doses unitárias por variação de peso

	Formulação 1 (%)	Formulação 2 (%)
1	98,65	99,47 %
2	99,06	99,68
3	98,43	101,98
4	97,65	99,95
5	99,68	98,18
6	98,85	98,85
7	97,85	100,95
8	100,25	97,96
9	98,89	100,16
10	98,95	99,94
Média dos conteúdos individuais	98,83	99,61
Desvio Padrão	0,7318	1,1674
DPR %	0,7405	1,1720
Valor de aceitação	1,76	2,80

Os comprimidos orodispersíveis, tanto da formulação 1 quanto da formulação 2, cumprem o teste de uniformidade de doses unitárias, pois os valores de aceitação (VA) calculado para as 10 unidades testadas não é maior que L1 (L1=15), conforme estabelecido pela farmacopeia brasileira.

3.3.3 DETERMINAÇÃO DO PESO MÉDIO

Levando em consideração o peso do comprimido produzido (300,00 mg), pode-se tolerar não mais que duas unidades fora do limite de $\pm 5,0\%$ (285,00 mg a 315,00 mg), entretanto, no que se refere ao peso médio, nenhum comprimido pode estar acima ou abaixo do dobro das porcentagens, ou seja $10,00\%$ (270,00 mg a 330,00 mg) (BRASIL, 2010).

Tabela 5. Peso médio dos comprimidos orodispersíveis (Formulação 1)

Formulação 1 (n=20)				
Peso (mg)	295,8	298,9	298,0	298,0
	299,9	298,1	302,0	303,9
	299,1	301,5	302,5	305,8
	297,1	303,3	299,1	300,5
	302,9	301,6	307,1	291,9
Peso médio	300,35 mg			
Desvio Padrão	3,536			
DPR %	1,177			

Tabela 6. Peso médio dos comprimidos orodispersíveis (Formulação 2)

Formulação 2 (n=20)				
Peso (mg)	304,6	303,9	303,5	299,1
	301,9	299,3	301,8	305,7
	298,7	303,7	300,1	302,2
	301,4	298,9	303,4	304,8
	304,0	299,5	306,3	299,6
Peso médio	302,12 mg			
Desvio Padrão	2,444			
DPR %	0,809			

Conforme observado na Tabela 5 e Tabela 6, todos os comprimidos ficaram dentro da especificação, logo, as formulações farmacêuticas testadas são formas homogêneas e com uniformidade de peso.

3.3.4 DETERMINAÇÃO DE RESISTÊNCIA MECÂNICA

3.3.4.1 DUREZA

O teste de dureza permite determinar a resistência do comprimido ao esmagamento ou à ruptura sob pressão radial. A dureza de um comprimido é proporcional à força de compressão e inversamente proporcional à sua porosidade.

A dureza dos comprimidos orodispersíveis é geralmente inferior aos comprimidos convencionais, uma vez que, o aumento da dureza aumenta o tempo de desintegração do comprimido, sendo este aspecto fundamental para o desenvolvimento do comprimido orodispersível (ARORA; VANDANA ARORA SETHI, 2013).

Desta forma, o teste consiste em submeter o comprimido à ação de um aparelho que meça a força (em newtons – N), aplicada diametralmente, necessária para esmagá-lo.

Tabela 7. Resultados de dureza para as formulações 1 e 2.

	Formulação 1	Formulação 2
	(n=10)	(n=10)
Dureza média	42,73 N	43,18 N
Desvio Padrão	2,102	2,040
DPR %	4,919	4,725

O valor de dureza aceitável para um comprimido orodispersível, está estabelecido 3-5 kg/cm², ou seja, aproximadamente 30-50 N. Como observando na Tabela 7, os valores referente a dureza ficaram dentro do preconizado, estando dessa forma com boa qualidade em relação ao aspecto de dureza (ELKHODAIRY; HASSAN; AFIFI, 2014; ROY, 2016).

3.3.4.2 FRIABILIDADE

O teste de friabilidade avalia a resistência dos comprimidos à abrasão, quando submetidos à ação mecânica. Na tentativa de reduzir o tempo de desintegração, os comprimidos orodispersíveis podem ter um aumento na friabilidade em relação aos comprimidos convencionais. Se um comprimido for muito friável pode não permanecer intacto durante a embalagem, transporte ou manuseio, desta forma a friabilidade de um comprimido é aspecto importante no desenvolvimento de uma formulação (ARORA; VANDANA ARORA SETHI, 2013).

Para realizar o teste de friabilidade, foram pesados com exatidão 20 comprimidos orodispersíveis de cada formulação, e introduzidos no friabilômetro, após decorrido o tempo da análise, foi removido qualquer resíduo da superfície dos

comprimidos e foram novamente pesados. Ao final do teste, nenhum comprimido pode apresentar-se, quebrado, lascado, rachado ou partido e são considerados aceitáveis os comprimidos com perda igual ou inferior a 1,5% do seu peso (BRASIL, 2010).

Tabela 8. Resultados de friabilidade para as formulações 1 e 2.

	Formulação 1	Formulação 2
	(n=20)	(n=20)
Friabilidade (%)	0,9348%	1,0551%

Os comprimidos orodispersíveis, conforme observado na Tabela 8, retrataram uma porcentagem de perda de material inferior a 1,5%, apresentando resultados satisfatórios relacionado a este parâmetro e demonstrando, dessa forma, com boa resistência mecânica.

3.3.5 DESINTEGRAÇÃO

O teste de desintegração permite verificar se comprimidos e cápsulas se desintegram dentro do limite de tempo especificado, quando seis unidades do lote são submetidas à ação de aparelhagem específica sob condições experimentais descritas (BRASIL, 2010).

A desintegração é definida, para os fins desse teste, como o estado no qual nenhum resíduo das unidades testadas (cápsulas ou comprimidos) permanece na tela metálica do aparelho de desintegração, salvo fragmentos insolúveis de revestimento de comprimidos ou invólucros de cápsulas. Consideram-se, também, como desintegradas as unidades que durante o teste se transformam em massa pastosa, desde que não apresentem núcleo palpável (BRASIL, 2010).

Tabela 9. Resultados de desintegração para as formulações 1 e 2.

	Formulação 1	Formulação 2
	(n=10)	(n=10)
Desintegração Média	47,28 seg	20,17 seg
Desvio Padrão	0,784	0,607
DPR %	1,658	3,010

De acordo com Farmacopeia Americana, um comprimido orodispersível deve se desintegrar dentro de 3 minutos. Dessa forma, conforme observado na Tabela 9, ambos as formulações ficaram dentro do especificado. Contudo, o tempo de desintegração inferior obtido pela formulação 2, pode ser associado ao superdesintegrante crospovidona, devido principalmente a sua capacidade de inchar e uma vez, que os resultados de dureza e friabilidade não apresentaram diferença significativa, a crospovidona é indicada como o superdesintegrante com melhor tempo de desintegração. Este resultado está de acordo com os resultados obtidos por Abed et al. (2010), no desenvolvimento de comprimidos orodispersíveis de Diazepam.

3.3.5.1 AVALIAÇÃO DA INFLUÊNCIA DA SALIVA SIMULADA E ESTUDO DE CAPTAÇÃO DE IMAGEM

A eficiência da desintegração dos comprimidos orodispersíveis foi verificada através da influência da saliva simulada (pH 6,8) e do estudo de captação de imagem demonstrando a desintegração dos comprimidos frente à solução de saliva simulada.

As formulações F1 e F2 foram avaliadas através da Figura 4. O estudo evidenciou a rápida desintegração dos comprimidos orodispersíveis, assim como ressaltou a diferença no tempo de desintegração nas diferentes formulações. Pode-se observar que após 20 segundos a formulação 2 desintegrou quase completamente enquanto a formulação 1 apresenta-se íntegra. Este fato está associado aos diferentes superdesintegrante das formulações, e está de acordo com os resultados obtidos no ensaio oficial de desintegração. Destaca-se ainda que a completa desintegração não ocorre devido à falta de agitação mecânica como realizado no ensaio de desintegração.

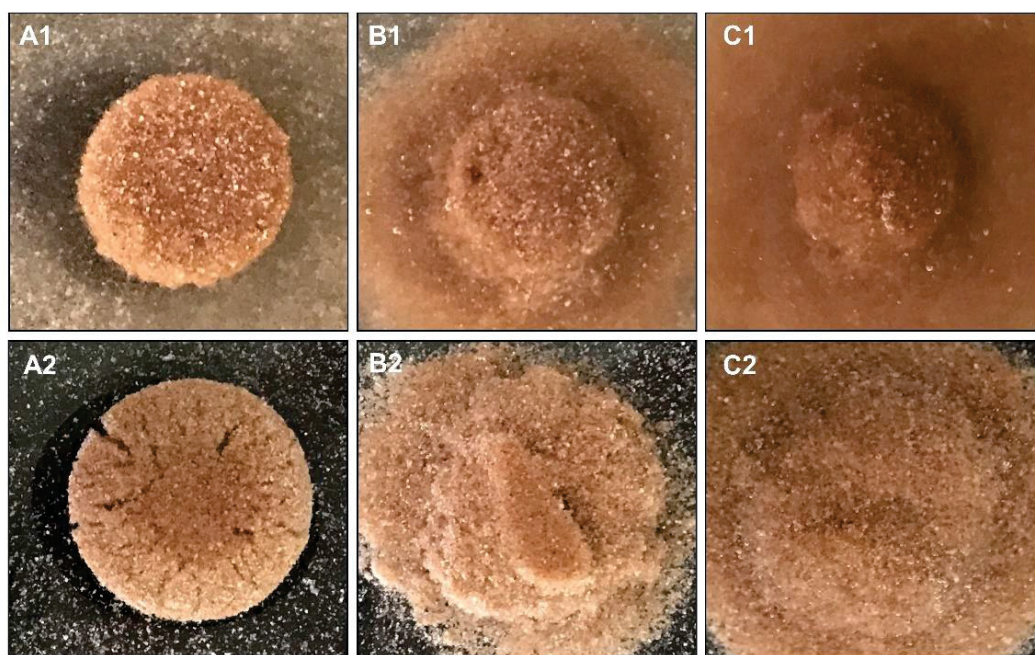


Figura 4. Fotomicrografias capturadas em solução saliva simulada pH 6,8. A= tempo de 5 segundos (A1 formulação 1 e A2 formulação 2), B = tempo de 20 segundos (B1 formulação 1 e B2 formulação 2), C = tempo de 40 segundos (C1 formulação 1 e C2 formulação 2).

Por fim, pode-se observar que a liberação dos constituintes a partir da desintegração dos comprimidos orodispersíveis, ocorre por meio de difusão na formulação 1, enquanto que na formulação 2 ocorre por meio de erosão.

3.4 ESTUDO DE DISSOLUÇÃO

Devido a não haver um método em compêndio oficial, foi necessário realizar o desenvolvimento e validação do método de dissolução.

Para o desenvolvimento e realização do método de dissolução foram utilizadas condições *sink*, com volume de meio pelo menos 3 vezes maior que o volume de saturação do fármaco. Desta forma, a concentração do meio de dissolução não se aproxima das condições de saturação, evitando assim, que a velocidade de dissolução reduza gradativamente (ROHRS, 2001).

As condições experimentais para o estudo de dissolução foram embasadas na farmacopeia americana. Desta maneira, o aparato escolhido para o ensaio de dissolução foi o aparato II (pás), uma vez que é o mais indicado para comprimidos de

liberação imediata. Em relação à velocidade de agitação, o escolhido foi a agitação de 50 rpm e o volume de meio estabelecido foi de 1000 mL à temperatura de $37 \pm 0,5$ °C (USP, 2016a).

O meio de dissolução utilizado de saliva simulada pH 6,8, foi preparado conforme os estudos de Jug et al. (2018) e Marques; Loebenberg; Almukainzi (2011).

Após a validação do estudo de dissolução, os perfis de dissolução foram determinados para cada formulação e a partir destes resultados, foi calculada a eficiência de dissolução (ED%) para inferir acerca da semelhança entre os perfis de dissolução estabelecidos.

3.4.1 VALIDAÇÃO

3.4.1.1 ESPECIFICIDADE

A especificidade do método analítico deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de identificar ou quantificar o analito de interesse, inequivocamente, na presença de componentes que podem estar presentes na amostra, como impurezas, diluentes e componentes da matriz (BRASIL, 2017a).

Desta forma é necessário demonstrar que os resultados não são indevidamente afetados pelos constituintes dos excipientes.

Os resultados de especificidade são demonstrados na Figura 5, onde pode-se observar que os excipientes não apresentaram absorção significativa na faixa de varredura de 190 à 300nm, bem como no comprimento de onda de máxima absorbância da sitagliptina, uma vez que obtiveram o resultado de interferência de 1,72%, não excedendo o limite de 2% especificado.

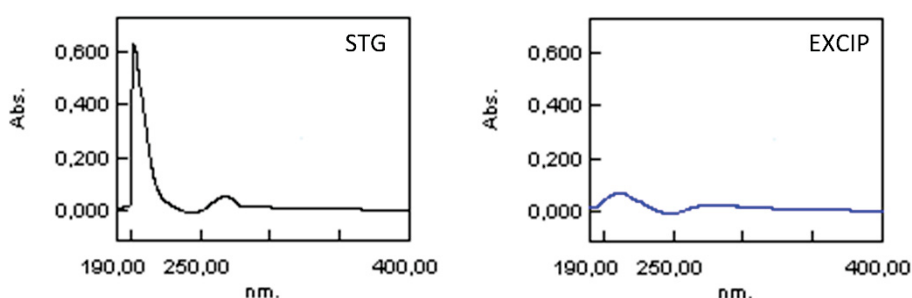


Figura 5. Determinação da especificidade do método de dissolução

Sendo assim, o método é específico, uma vez que os excipientes não interferiram na absorção da sitagliptina dentro da faixa estabelecida.

3.4.1.2 LINEARIDADE

A linearidade de um método deve ser demonstrada por meio da sua capacidade de obter respostas analíticas diretamente proporcionais à concentração de um analito em uma amostra (BRASIL, 2017a).

Conforme observado na Figura 6, o método demonstrou ser linear entre 2 - 15 $\mu\text{g mL}^{-1}$, com coeficiente de correlação de $R^2 = 0,9991$ e a equação da reta para curva de concentração determinada para o método foi $y = 0,0467x + 0,1551$, onde y refere-se a absorbância e x a concentração de sitagliptina.

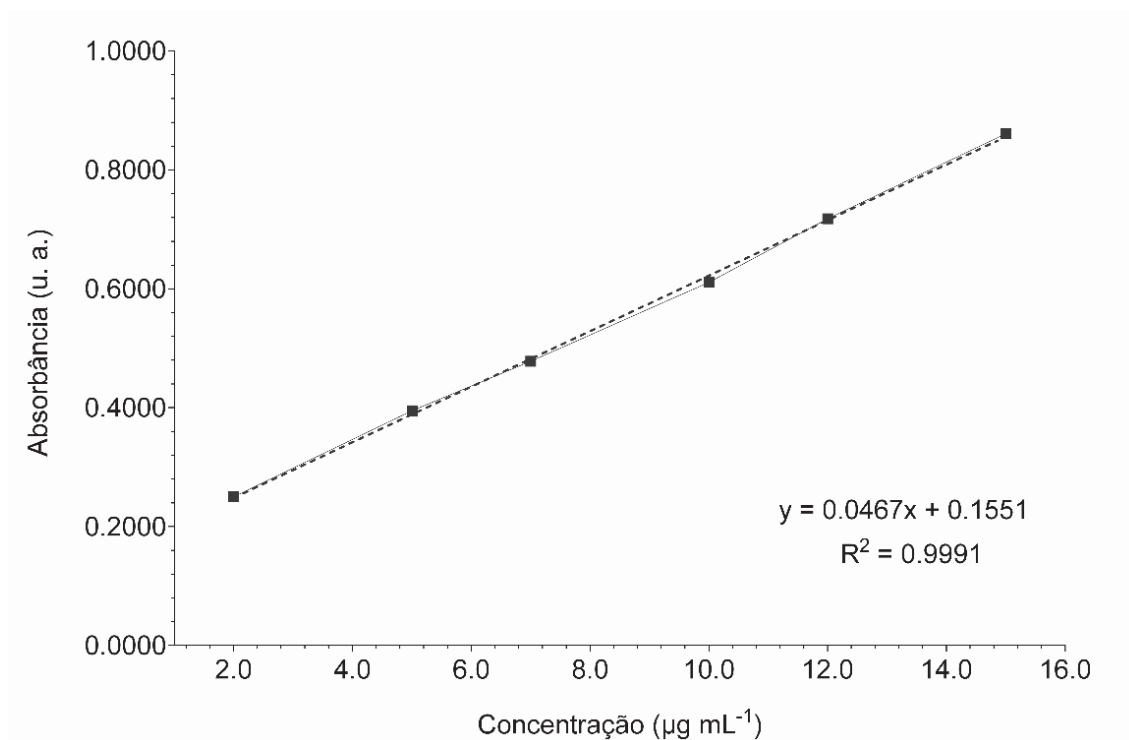


Figura 6. Curva de linearidade do método de dissolução

A análise estatística demonstrou uma regressão linear significativa ($p < 0,05$), validando o ensaio, desta forma.

3.4.1.3 LIMITES DE QUANTIFICAÇÃO E DETECÇÃO

O limite de quantificação é a menor quantidade do analito em uma amostra que pode ser determinada com precisão e exatidão aceitáveis sob as condições experimentais estabelecidas. Já o limite de detecção deve ser demonstrado pela obtenção da menor quantidade do analito presente em uma amostra que pode ser detectado (BRASIL, 2017a).

Levando em consideração a médias dos interceptos da curva de calibração e o desvio padrão, LD e LQ calculados foram de 0,42 e 1,42 $\mu\text{g mL}^{-1}$, respectivamente.

3.4.1.4 PRECISÃO

A precisão avalia a proximidade entre os resultados obtidos por meio de ensaios com amostras preparadas conforme descrito no método analítico a ser validado (BRASIL, 2017a).

Tabela 10. Precisão do método de dissolução

	Repetibilidade	Precisão intermediária	
	(n=6)	Interdias (n=6)	Entre analistas (n=6)
$\bar{X} \pm \text{DP}^*$	101,83 \pm 1,093	100,73 \pm 1,100	97,70 \pm 1,939
DPR**	1,074	1,092	1,985

*Média do Teor (%) \pm Desvio Padrão

**Desvio Padrão Relativo (%)

Segundo os resultados observados nas Tabela 10, tanto a repetibilidade quanto a precisão intermediária apresentaram resultados de teores de sitagliptina com desvio padrão relativo inferior a 2%, demonstrando a precisão do método.

3.4.1.5 EXATIDÃO

A exatidão de um método analítico avalia o grau de concordância entre os resultados individuais do método em estudo em relação a um valor aceito como verdadeiro (BRASIL, 2017a).

Tabela 11. Exatidão do método de dissolução

	80%	100%	120%
	(n=6)	(n=6)	(n=6)
$\bar{X} \pm DP^*$	79,42 \pm 1,934	100,69 \pm 1.183	118,44 \pm 0,675
Recuperação %	99,277	100,692	98,701
DPR**	2,435	1,175	0,570

*Média do Teor (%) \pm Desvio Padrão

**Desvio Padrão Relativo (%)

Conforme observado na Tabela 11, pode-se inferir que o método analítico é exato, uma vez que os resultados apresentados estão dentro das especificações das porcentagens de recuperação e o desvio padrão relativo é inferior a 5%.

3.4.1.6 ROBUSTEZ

A robustez é um parâmetro tipicamente realizado no desenvolvimento do método analítico que indica a sua capacidade em resistir a pequenas e deliberadas variações das condições analíticas (BRASIL, 2017a).

Os resultados observados na Tabela 12, apresentam valores de desvio padrão relativo inferior a 5% com teores de sitagliptina satisfatórios (95%-105%), sendo que nenhuma variação pré-estabelecida apresentou variação maior que 5%.

A análise de comparação das médias pelo teste-T foi realizada a fim de avaliar a similaridade dos teores de sitagliptina no ensaio de robustez. O valor P para todas as variações foi $> 0,05$, não demonstraram diferenças estatisticamente significativas, portanto o método analítico para estudo de dissolução de comprimidos orodispersíveis contendo sitagliptina é robusto.

Tabela 12. Robustez do método de dissolução

Variações				$\bar{X} \pm DP^*$	DPR**	p-value
	Agitação	pH do meio	Volume da cuba			
1	50 rpm	6,4	900 mL	99,24 \pm 0,435	0,439	0,0769
2	50 rpm	6,4	1000 mL	103,59 \pm 1,390	1,342	0,0675
3	50 rpm	6,8	900 mL	98,61 \pm 0,853	0,865	0,0593
4	50 rpm	7,2	900 mL	99,24 \pm 0,360	0,363	0,0698
5	50 rpm	7,2	1000 mL	102,02 \pm 0,222	0,217	0,0993
6	75 rpm	6,4	900 mL	102,89 \pm 1,126	1,094	0,0960
7	75 rpm	6,4	1000 mL	99,20 \pm 1,250	1,260	0,2093
8	75 rpm	6,8	900 mL	101,40 \pm 0,508	0,501	0,4021
9	75 rpm	6,8	1000 mL	99,20 \pm 0,111	0,112	0,0515
10	75 rpm	7,2	900 mL	98,96 \pm 0,866	0,875	0,0965
11	75 rpm	7,2	1000 mL	98,81 \pm 0,837	0,848	0,0748

*Média do Teor (%) \pm Desvio Padrão

**Desvio Padrão Relativo (%)

3.4.2 PERFIL DE DISSOLUÇÃO

A dissolução *in vitro* é um parâmetro avaliado tanto no desenvolvimento de formulação quanto para o controle de qualidade formas farmacêuticas orais, pois quantifica o teor do fármaco liberado em relação ao tempo. Além de possibilitar a correlações com os dados obtidos *in vivo*. Por isso, o perfil de dissolução contribui com dados conclusivos em relação às formulações desenvolvidas (JUG et al., 2018; SERRA; STORPIRTIS, 2007).

A Figura 7 apresenta o perfil de dissolução comparativo da F1 e F2 dos comprimidos orodispersíveis, estimando a porcentagem de liberação de sitagliptina em 10 minutos.

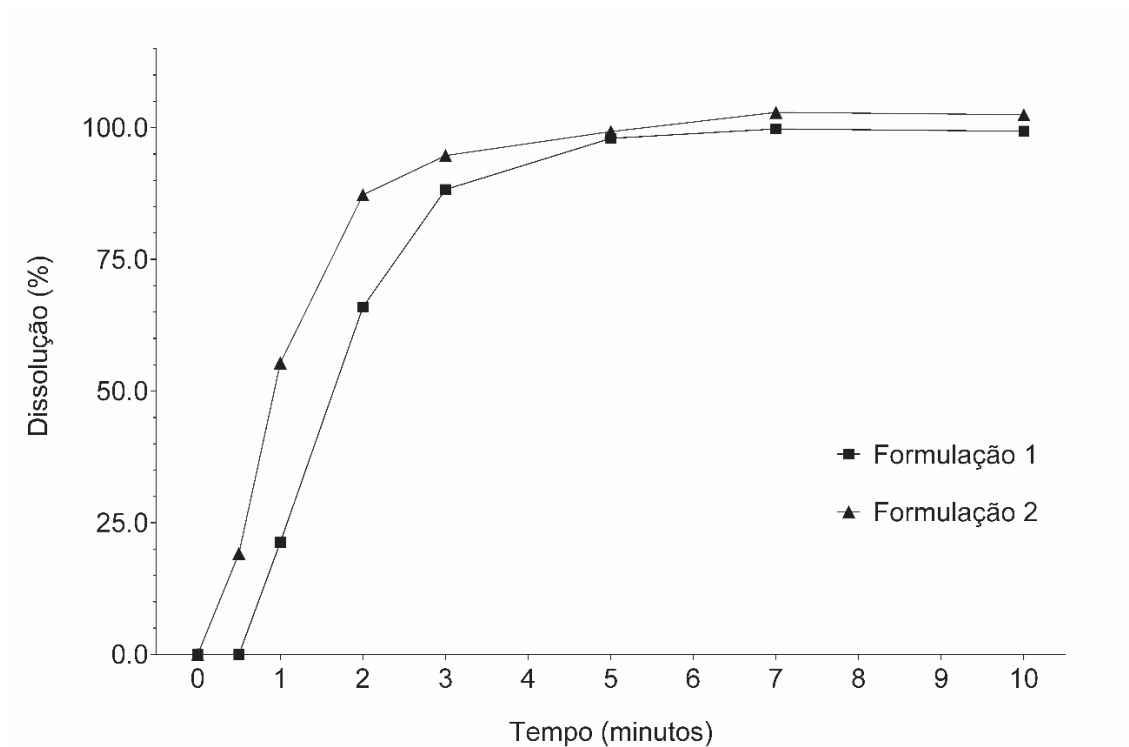


Figura 7. Perfil de dissolução dos comprimidos orodispersíveis

Observado o perfil de dissolução, nota-se que formulação 1 apresentou uma porcentagem de liberação inferior a 5% em 30 segundos, uma vez que a concentração de fármaco liberado pelo comprimido ficou abaixo do limite de detecção do método, esta porcentagem de liberação neste tempo, não é expressa no gráfico. Observa-se ainda que a porcentagem de liberação > 85% ocorre após 3 minutos.

Enquanto que, a formulação 2 apresentou uma porcentagem de liberação de aproximadamente 20% em 30 segundos, e em apenas 2 minutos a porcentagem de liberação foi > 85%. Desta forma, presume-se que a formulação 2 apresenta uma velocidade de dissolução mais rápida que a formulação 1.

Afim de comprovar essas considerações, foi avaliada a eficiência de dissolução (ED%), conforme apresentado na Tabela 13.

Tabela 13. Eficiência de dissolução da sitagliptina em comprimidos orodispersíveis.

	Formulação 1	Formulação 2
$\bar{X} \pm DP^*$	80,88 \pm 4,536	88,512 \pm 2,527
DPR**	5,608	2,855

*Média do Teor (%) \pm Desvio Padrão

**Desvio Padrão Relativo (%)

A eficiência de dissolução, é um parâmetro importante da cinética de dissolução, definido como a área sob a curva de dissolução em um determinado intervalo de tempo. Está relacionado com a quantidade real de fármaco que se encontra dissolvida no meio de dissolução, presumindo-se desta forma, resultados *in vivo* (SERRA et al., 2015).

Este parâmetro de dissolução foi avaliado até o tempo 10 minutos do perfil de dissolução, pois neste tempo obtém-se 100% de liberação de sitagliptina sem saturação do meio. A partir dos resultados da eficiência de dissolução, analisou-se a similaridade entre as formulações por análise estatística, que apresentaram um valor $p = 0,0082$, ou seja, estatisticamente significativo. Desta forma, conclui-se que a formulação 2 apresenta uma eficiência de dissolução superior.

4. CONCLUSÃO

Para o desenvolvimento racional de comprimidos orodispersíveis contendo sitagliptina, foi inicialmente realizado o estudo de pré-formulação de compatibilidade fármaco-excipientes. No qual, a calorimetria exploratória diferencial (DSC) mostrou uma interação entre a sitagliptina e os excipientes estearato de magnésio e a sucralose, sendo essa interação atribuída à composição do excipiente. Para corroborar os estudos de compatibilidade e viabilidade das formulações, foram utilizadas técnicas de difração de raios-x em pó (DRXP) e de espectroscopia de infravermelho (FTIR), mostrando espectros comparativos entre a sitagliptina pura e sitagliptina com excipientes.

Em geral, não houve deslocamento, desaparecimento ou mesmo interferência nas bandas de absorção nos espectros, ressaltando as bandas de absorção características permaneceram no espectro da mistura, confirmando desta forma que não houve incompatibilidade no estado sólido e, portanto, os excipientes são inertes.

Deste modo, estudos de pré-formulação possibilitaram a produção de comprimidos orodispersíveis, garantindo a eficiência e qualidade do medicamento produzido.

O desenvolvimento e obtenção dos comprimidos orodispersíveis contendo sitagliptina mostrou resultados significativos entre as formulações estabelecidas. Com relação à variação dos superdesintegrantes, a formulação contendo o superdesintegrante crospovidona (F2) apresentou um tempo de desintegração inferior em relação a formulação contendo croscarmelose (F1), este resultado foi confirmado pelo estudo de captação de imagem, onde observou-se que a características de desintegração da F2 ocorre por meio de erosão e a F1 por meio de difusão.

No que se refere a dissolução do comprimido, primeiramente foi necessário realizar o desenvolvimento e validação da metodologia analítica adequada, para obter resultados confiáveis, que possam ser satisfatoriamente interpretados, fornecendo dados específicos, precisos, exatos e robustos, segundo a validação realizada.

Desta forma, conclui-se que a crospovidona contribui substancialmente e significativamente, segundo estudo estatístico, para uma maior eficiência de dissolução no estudo, liberando 100% de sitagliptina em 5-7 minutos, otimizando a ação farmacológica da sitagliptina, em relação a outra formulação. Portanto, a

formulação contendo crospovidona (F2) foi estabelecida como a melhor formulação do processo de desenvolvimento e produção.

5. REFERÊNCIAS

- ABED, K. K. et al. Formulation and Optimization of Orodispersible Tablets of Diazepam. **AAPS PharmSciTech**, v. 11, n. 1, p. 356–361, 16 mar. 2010.
- ALSALIM, W. et al. Effect of a single dose of the DPP-4 inhibitor sitagliptin on β -cell function and incretin hormone secretion after meal ingestion in healthy volunteers and drug-naïve, well-controlled type 2 diabetes subjects. **Diabetes, Obesity and Metabolism**, v. 20, n. 4, p. 1080–1085, 2017.
- AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, v. 37, n. 1, 2014.
- ARORA, P.; VANDANA ARORA SETHI. Orodispersible tablets: A comprehensive review. **International Journal of Research and Development in Pharmacy and Life Sciences**, v. 2, n. 2, p. 270–284, 2013.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. v. 1
- BRASIL. **RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017a.
- BRASIL. **Farmacopeia Brasileira: Segundo Suplemento**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017b.
- CAI, X. et al. DPP-4 Inhibitor Treatment in Chinese Type 2 Diabetes Patients: A Meta-Analysis. **Diabetes Technology & Therapeutics**, v. 18, n. 12, p. 784–793, 2016.
- CHATZIZAHARIA, K. A.; HATZIAVRAMIDIS, D. T. Dissolution Efficiency and Design Space for an Oral Pharmaceutical Product in Tablet Form. **Industrial and Engineering Chemistry Research**, v. 54, n. 24, p. 6305–6310, 2015.
- CORDERO-HERRERA, I. et al. Cocoa flavonoids improve insulin signalling and modulate glucose production via AKT and AMPK in HepG2 cells. **Molecular Nutrition and Food Research**, v. 57, n. 6, p. 974–985, 2013.
- DE LIMA GOMES, E. C. et al. Mixing method influence on compatibility and polymorphism studies by DSC and statistical analysis: Application to tenofovir disoproxil fumarate. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, n. 3, p. 2123–2128, 2018.
- DWIVEDI, S. D. et al. **Process for the Preparation of Sitagliptin Phosphate** United States, 2015.
- ELKHODAIRY, K. A.; HASSAN, M. A.; AFIFI, S. A. Formulation and optimization of orodispersible tablets of flutamid. **Saudi pharmaceutical journal**, v. 22, p. 53–61, 2014.
- ICH. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)**. USA:

Harmonised Tripartite Guideline, 2005.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. IDF Worldwide table 2017. **Www.Diabetesatlas.Org**, 2017.

JUG, M. et al. An overview of in vitro dissolution/release methods for novel mucosal drug delivery systems. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 147, p. 350–366, 2018.

KATAYAMA, T. et al. In Vivo Drug Dissolution in Human Oral Cavity from Orally Disintegrating Tablet and Comparability with in Vitro Testing. v. 66, n. 10, p. 999–1005, 2018.

KHAN, M. I. et al. ATR-FTIR based pre and post formulation compatibility studies for the design of niosomal drug delivery system containing nonionic amphiphiles and chondroprotective drug. **Journal of the Chemical Society of Pakistan**, v. 37, n. 3, 2015.

MARQUES, M. R. C.; LOEBENBERG, R.; ALMUKAINZI, M. Simulated Biological Fluids with Possible Application in Dissolution Testing. n. August, p. 15–28, 2011.

MOHAMED, M. A. et al. Fourier Transform Infrared Spectroscopy. In: **Spectroscopic Methods for Nanomaterials Characterization**. [s.l.] Elsevier B.V., 2017. v. 2p. 73–93.

MOHANTY, D. DESIGN CHARACTERIZATION AND OPTIMIZATION OF ORALLY Journal of Global Trends in Pharmaceutical Sciences. n. January, 2018.

MOQBEL, H. A.; ELMESHAD, A. N.; EL-NABARAWI, M. A. Comparative study of different approaches for preparation of chlorzoxazone orodispersible tablets. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, n. 5, p. 742–750, 4 maio 2017.

MURAKAMI, F. S. et al. Desenvolvimento e avaliação de comprimidos gastro-resistentes contendo 20 mg de omeprazol. **Latin American Journal of Pharmacy**, v. 27, n. 4, p. 519–527, 2008.

MURAKAMI, F. S. et al. Physico-chemical solid-state characterization of omeprazole sodium: Thermal, spectroscopic and crystallinity studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 1, p. 72–80, 2009.

NAKANO, Y. et al. Preparation and evaluation of unpleasant taste-masked pioglitazone orally disintegrating tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 446, n. 1–2, p. 160–165, 2013.

OLIVEIRA, L. J. et al. Physical–chemical characterization studies of ketoprofen for orodispersible tablets. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 133, n. 3, p. 1521–1533, 2018.

PRISTA, L. N.; ALVES, A. C.; MORGADO, R. M. R. **Técnica Farmacêutica e Farmácia Galénica**. 2ª ed. Lisboa: Fundação Calouste Gulbenkian, 1979.

ROHRS, B. R. Dissolution method development for poorly soluble compounds.

Dissolution Technologies, v. 8, n. 3, p. 1–5, 2001.

ROWE, R. C.; SHESKEY, P. J.; QUINN, M. E. **Handbook of Pharmaceutical Excipients**. Sixth ed. USA: Pharmaceutical Press, 2009.

ROY, A. Orodispersible tablets: A review. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research**, v. 9, n. 1, p. 10–17, 2016.

SERRA, C. H. DOS R. et al. Dissolution efficiency and bioequivalence study using urine data from healthy volunteers: A comparison between two tablet formulations of cephalexin. **Brazilian Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 51, n. 2, p. 383–392, 2015.

SERRA, C. H. DOS R.; STORPIRTIS, S. Comparação de perfis de dissolução da cefalexina através de estudos de cinética e eficiência de dissolução (ED%). **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 1, p. 79–88, mar. 2007.

SHANTIKUMAR, S. et al. Compatibility study between sitagliptin and pharmaceutical excipients used in solid dosage forms. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 115, n. 3, p. 2423–2428, 2014.

USP. **Sitagliptin Tablets**. USP39-NF34. ed. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 2016a.

USP. **The Dissolution Procedure: Development and Validation**. USP39-NF34. ed. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 2016b.

VEIGA, A. et al. Solid-state compatibility studies of a drug without melting point: The case of omeprazole sodium. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 131, n. 3, p. 3201–3209, 2018.

VILLANOVA, J. C. O.; ORÉFICE, R. L.; CUNHA, A. S. Aplicações Farmacêuticas de Polímeros. **Polímeros: Ciência e Tecnologia**, v. 20, n. 1, p. 51–64, 2010.

WAGH, M. P.; PATWARDHAN, D. M.; PATIL, R. R. FORMULATION DEVELOPMENT AND EVALUATION OF SITAGLIPTIN PHOSHPHATE. **European Journal of Biomedical and Pharmaceutical Sciences**, v. 4, n. 10, p. 500–513, 2017.

CONCLUSÃO GERAL

- ✓ Caracterizações físico-químicas no estado sólido do fosfato de sitagliptina monoidratada (STG), do fosfato de sitagliptina anidra (STGA) e da forma base de sitagliptina (STGB) através de técnicas como DSC, TG, FTIR, RAMAN, DRXP e MEV, foram realizadas para avaliar a estabilidade, características físico-química e solubilidade das moléculas;
- ✓ O fosfato de sitagliptina monoidratado (STG) foi determinada como a estrutura cristalina mais adequada para o desenvolvimento de formulas farmacêuticas com qualidade;
- ✓ Estudo de pré-formulação por meio de técnicas termoanalíticas e espectroscópicas confirmaram as características físico-químicas da sitagliptina e verificaram as compatibilidades fármaco-excipiente viabilizando as formulações propostas;
- ✓ Foram desenvolvidas duas formulações de comprimidos orodispersíveis, cada uma contendo um superdesintegrante.
- ✓ Testes de controle de qualidade do processo e do produto final contribuíram para resultados satisfatórios para produção de uma nova forma farmacêutica;
- ✓ A metodologia para estudo de dissolução da STG foi validada e apresentou valores dentro dos limites especificados;
- ✓ O perfil de dissolução comparativo apresentou diferenças significativas, sendo comprovada pelo estudo de eficiência de dissolução;
- ✓ De modo geral, a formulação F2 contendo crospovidona apresentou as melhores características de tempo de desintegração e eficiência de dissolução.

REFERÊNCIAS

AMERICAN DIABETES ASSOCIATION. Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. **Diabetes Care**, v. 34, n. Supplement_1, p. S62–S69, 2011.

AULTON, M. E. **Delineamento de Formas Farmacêuticas**. Elsevier Editora Ltda., 2016.

BERGER, J. P. et al. A comparative study of the binding properties , dipeptidyl lowering efficacy of the DPP- - saxagliptin , sitagliptin and vildagliptin in mice. **endocrinology, Diabetes & Metabolism**, n. September 2017, p. 1–8, 2018.

BERNAL, C. et al. Influência de alguns parâmetros experimentais nos resultados de análises calorimétricas diferenciais - DSC. **Química Nova**, v. 25, n. 5, p. 849–855, 2002.

BERNARDI, L. S. et al. Characterization of venlafaxine hydrochloride and compatibility studies with pharmaceutical excipients. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 97, n. 2, p. 729–733, 2009.

BÖSENBERG, L. H.; VAN ZYL, D. G. The mechanism of action of oral antidiabetic drugs: A review of recent literature. **Journal of Endocrinology, Metabolism and Diabetes of South Africa**, v. 13, n. 3, p. 80–88, 2008.

BRASIL. **Farmacopeia Brasileira**. 5ª ed. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2010. v. 1

BRASIL. **RDC Nº 166, de 24 de julho de 2017. Dispõe sobre a validação de métodos analíticos e dá outras providências**. Brasília: Agência Nacional de Vigilância Sanitária, 2017.

BRITTAIN, H. G. 2 - Characterization of Pharmaceutical Compounds in the Solid State. In: TECHNOLOGY, S. S. (Ed.). **Handbook of Modern Pharmaceutical Analysis**. 2. ed. New Jersey: Academic Press, 2011. v. 10p. 11–58.

BROWN, D. Orally disintegrating tablets: Taste over speed. **Drug Deliv Technol**, v. 3, p. 58–61, 2003.

CAI, X. et al. DPP-4 Inhibitor Treatment in Chinese Type 2 Diabetes Patients: A Meta-Analysis. **Diabetes Technology & Therapeutics**, v. 18, n. 12, p. 784–793, 2016.

CHADHA, R.; BHANDARI, S. Drug-excipient compatibility screening-Role of thermoanalytical and spectroscopic techniques. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 87, p. 82–97, 2014.

CHATTORAJ, S.; SUN, C. C. Crystal and Particle Engineering Strategies for Improving Powder Compression and Flow Properties to Enable Continuous Tablet Manufacturing by Direct Compression. **Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 107, n. 4, p. 968–974, 2018.

CHAURISA, G. A review on pharmaceutical preformulation studies in formulation and development of new drug molecules. **International Journal of Pharma Research & Review**, v. 7, n. 6, p. 2313–2320, 2016.

DE LA FUENTE, J. L. et al. Thermal characterization of HCN polymers by TG–MS, TG, DTA and DSC methods. **Polymer Degradation and Stability**, v. 96, n. 5, p. 943–948, 2011.

DENARI, G. B. **Contribuições ao Ensino de Análise Térmica**. Universidade de São Paulo, 2013.

DEY, P.; MAITI, S. Orodispersible tablets: A new trend in drug delivery. **Journal of Natural Science, Biology and Medicine**, v. 1, n. 1, p. 2, 2010.

DICKEN, A. et al. High energy transmission annular beam X-ray diffraction. **Optics express**, v. 23, n. 5, p. 6304–6312, 2015.

DING, Y. et al. Thermal degradation of beech wood with thermogravimetry/Fourier transform infrared analysis. **Energy Conversion and Management**, v. 120, p. 370–377, 2016.

DOGGRELL, S. A.; DIMMITT, S. B. Sitagliptin and other ‘gliptins’– why prescribe them? **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 17, n. 6, p. 757–760, 2016.

DUARTE, L. DA C. et al. Aplicações de Microscopia Eletrônica de Varreura (MEV) e Sistema de Energia Dispersiva (EDS) no estudo de Gemas: exemplos brasileiros. **The Journal of biological chemistry**, v. 30, n. 2, p. 3–15, 2003.

EL-BAGARY, R. I.; ELKADY, E. F.; AYOUB, B. M. Spectrophotometric methods for the determination of sitagliptin and vildagliptin in bulk and dosage forms. **International Journal of Biomedical Science**, v. 7, n. 1, p. 55–61, 2011.

FU, Y. et al. Orally Fast Disintegrating Tablets: Developments, Technologies, Taste-Masking and Clinical Studies. **Critical Reviews in Therapeutic Drug Carrier Systems**, v. 21, n. 6, p. 433–476, 2004.

GIRON, D. Applications of thermal analysis and coupled techniques in pharmaceutical industry. **Journal of Thermal Analysis and Calorimetry**, v. 68, n. 2, p. 335–357, 2002.

GREEN, J. B. et al. Effect of Sitagliptin on Cardiovascular Outcomes in Type 2 Diabetes. **New England Journal of Medicine**, v. 373, n. 3, p. 232–242, 2015.

ICH. **Validation of Analytical Procedures: Text and Methodology Q2(R1)**. USA: Harmonised Tripartite Guideline, 2005.

INTERNATIONAL DIABETES FEDERATION. **IDF DIABETES ATLAS**. Brussels, Belgium: [s.n.]. Disponível em: <www.diabetesatlas.org>.

IONASHIRO, M. **Giolito - Fundamentos da Termogravimetria Análise Térmica Diferencial Calorimetria Exploratória Diferencial**. Araraquara: Giz Editorial, 2004.

JEAN-BAPTISTE, V. S. E. et al. Type 1 Diabetes and Type 1 Interferonopathies: Localization of a Type 1 Common Thread of Virus Infection in the Pancreas. **EBioMedicine**, v. 22, n. 2016, p. 10–17, 2017.

KUCHEKAR, B. S.; ATUL, C. B. Mouth dissolving tablet: A novel drug delivery system. **Pharm times**, v. 25, p. 43–47, 2003.

LIN, W.; SUKSOMBOON, N. Efficacy and safety of semaglutide in type 2 diabetes compared with sitagliptin, exenatide ER, insulin glargine, basal insulin and placebo: a systematic review. v. 45, n. 3, p. 123–130, 2018.

MENÉNDEZ TORRE, E. et al. Recommendations for the pharmacologic treatment of hyperglycemia in type 2 diabetes. Consensus document. **Nefrología : publicación oficial de la Sociedad Espanola Nefrología**, v. 31, n. 1, p. 17–26, 2011.

MOQBEL, H. A.; ELMESHAD, A. N.; EL-NABARAWI, M. A. Comparative study of different approaches for preparation of chlorzoxazone orodispersible tablets. **Drug development and industrial pharmacy**, v. 43, n. 5, p. 742–750, 2017.

MUNSON, E. Analytical Techniques in Solid-state Characterization. In: YIHONG QIU et al. (Eds.). **Developing Solid Oral Dosage Forms**. 2. ed. USA: Academic Press, 2009. p. 61–74.

MURAKAMI, F. S. et al. Physico-chemical solid-state characterization of omeprazole sodium: Thermal, spectroscopic and crystallinity studies. **Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 49, n. 1, p. 72–80, 2009.

MUSHTAQUE, A. et al. Prevalence of depression in patients of type 2 diabetes mellitus: A cross sectional study in a tertiary care centre. **Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews**, v. 10, n. 4, p. 238–241, 2016.

NAKANO, Y. et al. Preparation and evaluation of unpleasant taste-masked pioglitazone orally disintegrating tablets. **International Journal of Pharmaceutics**, v. 446, n. 1–2, p. 160–165, 2013.

NIE, H.; BYRN, S. R.; ZHOU, Q. (TONY). Stability of pharmaceutical salts in solid oral dosage forms. **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 43, n. 8, p. 1215–1228, 2017.

PELUSI, A. et al. Rapid detection and quantification of haptophyte alkenones by Fourier transform infrared spectroscopy (FTIR). **Algal Research**, v. 19, p. 48–56, 2016.

PENCE, I.; MAHADEVAN-JANSEN, A. Clinical instrumentation and applications of Raman spectroscopy. **Chemical Society Reviews**, v. 45, n. 7, p. 1958–1979, 2016.

PETROVICK, G. F.; KLEINEBUDDE, P.; BREITKREUTZ, J. Orodispersible tablets containing taste-masked solid lipid pellets with metformin hydrochloride: Influence of process parameters on tablet properties. **European Journal of Pharmaceutics and Biopharmaceutics**, v. 122, n. October 2017, p. 137–145, 2018.

S BIRADAR, S BHAGAVATI, I. K. Fast Dissolving Drug Delivery Systems: A Brief

Overview. **The Internet Journal of Pharmacology**, v. 4, n. 2, 2005.

SCHEEN, A. J. The safety of gliptins : updated data in 2018. **Expert Opinion on Drug Safety**, v. 17, n. 4, p. 387–405, 2018.

SHABIR, G. A. Validation of high-performance liquid chromatographic methods for the pharmaceutical analysis: Understanding the differences and similarities between the requirements of the US Food and Drug Administration, and the US Pharmacopeia and the International Con. **Journal of Chromatography A**, v. 987, n. 1–2, p. 57–66, 2003.

SHAKYA, S. Formulation and Optimization of Immediate Release Tablet of Sitagliptin Phosphate using Response Surface Methodology. **International Journal of Pharmacy, Biology and Medical Sciences**, v. 4, n. 1, 2015.

SILVA, E. C. DA; PAOLA, M. V. R. V. DE; MATOS, J. DO R. Análise térmica aplicada à cosmetologia. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas**, v. 43, n. 3, p. 347–356, 2007.

SIRIGIRI, N. Stability indicating method development and validation for simultaneous estimation of sitagliptin phosphate and metformin HCl in tablets by HPLC. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Reserch**, v. 9, n. 10, 2018.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; NIEMAN, T. A. **Principes d'analyse instrumentale**. De Boeck, 2003.

SLAVKOVA, M.; BREITKREUTZ, J. European Journal of Pharmaceutical Sciences Orodispersible drug formulations for children and elderly. **European Journal of Pharmaceutical Sciences**, v. 75, p. 2–9, 2015.

SNELLINGS, R. et al. Rietveld Refinement strategy for Quantitative Phase analysis of Partially Amorphous zeolitized tuffaceous rocks. **Geologica Belgica**, v. 13, n. 3, p. 183–196, 2010.

SOCIEDADE BRASILEIRA DE DIABETES. Diretriz da Sociedade Brasileira de Diabetes 2017-2018. **Sociedade Brasileira de Diabetes**, São Paulo. 2017.

THORNBERRY, N. A.; GALLWITZ, B. Mechanism of action of inhibitors of dipeptidyl-peptidase-4 (DPP-4). **Best Practice and Research: Clinical Endocrinology and Metabolism**, v. 23, n. 4, p. 479–486, 2009.

TIEGER, E. et al. Crystallisation of a salt hydrate with a complex solid form landscape. **CrystEngComm**, v. 19, n. 14, p. 1912–1925, 2017.

TOLLER, A. B.; SCHIMDT, C. A. Excipiente a base de celulose e lactose para compressão direta. **Disciplinarum Scientia | Saúde**, v. 6, n. 1, p. 61–80, 2005.

UGHDE, V.; DESHMANE, S.; BIYANI, K. A Review on Fast Dissolving Tablet. **International Jounal of pharmaceutical and chemical sciences**, v. 4, n. 3, 2015.

USP. **The Dissolution Procedure: Development and Validation**. USP39-NF34. ed. Rockville: United States Pharmacopeia Convention, 2016.

WHO. **Global report on diabetes**. Genebra, Suíça: 2016. Disponível em: <<http://www.who.int/diabetes/publications/grd-2016/en/>>.